

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

**Synthèse d'analogues de nucléosides cardioprotecteurs
comportant un centre quaternaire carboné et étude de leur
mécanisme d'action biologique par photo-affinité**

par

Louis Leblanc

Département de chimie, Université de Montréal
Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) en Chimie

Avril 2017

© Louis Leblanc, 2017

SOMMAIRE

Dans le monde de la médecine moderne, les nouveaux traitements contre le cancer ont permis d'augmenter considérablement l'espérance de vie pour la majorité des patients atteints de ce fléau. Cependant, un des principaux effets secondaires néfastes des traitements anticancéreux est l'atteinte des fonctions cardiaques. Ces répercussions se manifestant sous forme d'insuffisance cardiaque affectent plusieurs survivants du cancer, tels que des enfants et des adultes traités pour la leucémie ou des tumeurs solides. À ce jour, aucun traitement efficace n'est connu afin de traiter ces dégénérescences cardiaques. Par conséquent, considérant les précédents de notre laboratoire dans la synthèse d'analogues de nucléosides ainsi que les nombreuses applications de ces derniers dans le domaine médical, le premier objectif de ce projet était de développer une nouvelle classe d'analogues de nucléosides comportant un centre quaternaire carboné en C-2' et possédant des propriétés cardioprotectrices. Le deuxième objectif était de concevoir une stratégie impliquant des sondes de photo-affinité afin d'étudier le mécanisme d'action biologique de nos meilleurs composés, celui-ci étant inconnu à ce jour. Les étapes clés des voies de synthèse conçues impliquent une aldolisation de Mukaiyama diastéréosélective avec un contrôle par le substrat ainsi qu'une méthode innovatrice utilisant la chimie des radicaux libres afin de synthétiser stéréosélectivement le centre quaternaire encombré en C-2'. Une banque d'analogues a été obtenue avec succès afin de mener des études de relation structure-activité et des sondes de photo-affinité ont été synthétisées et liées sur notre composé possédant les activités biologiques les plus prometteuses.

Mots clés : Synthèse, Analogues de nucléosides, Cardioprotection, Centre quaternaire carboné, Transfert radicalaire, Photo-affinité, Aldolisation de Mukaiyama, Diastéréosélectivité

ABSTRACT

Emerging treatments against cancer have permitted a significant increase in life expectancy for most patients stricken with this disease. Unfortunately, one of the secondary effects of these anticancer treatments is the diminishing of cardiac functions. This repercussion ultimately manifests itself as cardiac failure and affects numerous survivors of the disease, such as infants and adults treated for leukemia or solid tumors. Until now, no efficient treatment is known to combat the degeneration of cardiac functions. Therefore, taking into consideration the precedents of our laboratory in the synthesis of nucleoside analogues, as well as their numerous applications in the medical domain, the first objective of this project was to develop a new class of nucleoside analogues bearing an all-carbon quaternary center at C-2' that exhibits cardioprotective properties. The second objective was to develop a synthetic strategy that incorporates a photo-affinity probe on the nucleoside scaffold that would allow us to study the yet to be elucidated biological mechanism of action of our most effective compounds. Key steps of the synthetic route include a substrate-controlled diastereoselective Mukaiyama aldol reaction, as well as an innovative method involving free-radical chemistry to stereoselectively synthesize the challenging quaternary center at C-2'. A library of analogues has been successfully obtained to perform structure-activity relationship (SAR) studies and photo-affinity probes were synthesized and linked to our compound possessing the most promising biological activity.

Keywords : Synthesis, Nucleoside analogues, Cardioprotection, All-carbon quaternary center, Radical transfer, Photo-affinity, Mukaiyama aldol reaction, Diastereoselectivity

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	i
ABSTRACT	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES SCHÉMAS	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xiii
REMERCIEMENTS.....	xviii

CHAPITRE 1. INTRODUCTION	1
1.1. Mise en contexte	1
1.2. La régulation des fonctions cardiaques : les récepteurs purinergiques	2
1.2.1. Les récepteurs membranaires <i>P2Y</i> et <i>PI</i>	3
1.2.2. Les récepteurs membranaires <i>P2X</i>	5
1.2.2.1. Des analogues d'adénosine monophosphate (AMP) en tant que molécules cardioprotectrices	6
1.3. Perspectives de recherche : nos analogues de nucléosides cardioprotecteurs comportant un centre quaternaire carboné	8
1.4. Conclusion	9

CHAPITRE 2. LES NUCLÉOSIDES : APPLICATIONS MÉDICALES ET	
MÉTHODES DE SYNTHÈSE	11
2.1. Introduction.....	11
2.2. Les nucléosides en tant qu'agents anticancéreux et antiviraux	12

2.3.	Méthodes de synthèse des nucléosides	15
2.3.1.	Approche convergente : stratégie cyclique	16
2.3.1.1.	N-Glycosylation par déplacement S_N2 de type paire d'ions intime.....	17
2.3.1.2.	N-Glycosylation par déplacement S_N2 d'un haloacétal	18
2.3.2.	Approche convergente : stratégie acyclique.....	20
2.4.	Conclusion	22

CHAPITRE 3. SYNTHÈSE DE CENTRES QUATERNAIRES CARBONÉS ET

	ALDOLISATION DE MUKAIYAMA.....	24
3.1.	Introduction.....	24
3.2.	Synthèse de centres quaternaires carbonés afin de former des lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées	25
3.2.1.	Alkylations diastéréosélectives	26
3.2.2.	Substitutions allyliques	28
3.2.3.	Aldolisations.....	29
3.2.4.	Réarrangements sigmatropiques [3,3].....	32
3.2.5.	Application de la chimie radicalaire.....	34
3.2.5.1.	Premiers exemples rapportés	35
3.2.5.2.	Méthode générale impliquant une aldolisation de Mukaiyama suivie d'une alkylation radicalaire	36
3.3.	Aldolisation de Mukaiyama.....	41
3.3.1.	Mécanismes.....	42
3.3.2.	États de transition impliqués et sélectivités.....	45
3.3.2.1.	Addition d'énolates silylés sur des aldéhydes α -chiraux.....	45
3.3.2.2.	Addition d'énolates silylés sur des aldéhydes chiraux α -hydroxylés.....	47
3.4.	Conclusion	49

CHAPITRE 4. PREMIÈRE VOIE DE SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE NUCLÉOSIDES CARDIOPROTECTEURS 50

4.1.	Introduction.....	50
4.2.	Première voie de synthèse.....	50
4.2.1.	Formation de l'éther d'énol silylé	51
4.2.2.	Aldolisation de Mukaiyama avec contrôle par le substrat	52
4.2.3.	Formation des furanosides par cyclisation et préparation du précurseur pour la réaction radicalaire	54
4.2.4.	Formation du centre quaternaire carboné.....	54
4.2.5.	Synthèse du précurseur tétra-benzoylé pour la <i>N</i> -glycosylation	58
4.2.6.	<i>N</i> -Glycosylation	59
4.2.6.1.	Proposition mécanistique pour la <i>N</i> -glycosylation	61
4.2.7.	Suite et fin de la première voie de synthèse des analogues cardioprotecteurs ..	62
4.3.	Résultats biologiques préliminaires	65
4.4.	Autres analogues synthétisés à des fins d'études de relation structure-activité.....	66
4.4.1.	Modification du 5'-monophosphate	67
4.4.2.	Modification sur la base azotée	70
4.4.3.	Insertion d'un groupement benzyle en position C-2'	71
4.5.	Preuves de structure	77
4.6.	Conclusion et perspectives.....	80

CHAPITRE 5. SYNTHÈSE D'ANALOGUES COMPORTANT UNE SONDE DE PHOTO-AFFINITÉ 82

5.1.	Introduction.....	82
5.2.	Les sondes de photo-affinité en chimie médicinale.....	82
5.2.1.	Groupements photo-réactifs	83
5.2.2.	Étiquettes d'identification	84
5.2.3.	Méthode impliquant l'insertion du fluorophore suite à la photo-activation.....	86
5.2.4.	Exemples de sondes de photo-affinité liées à des composés bioactifs.....	87
5.3.	Application du principe de la photo-affinité sur nos analogues cardioprotecteurs...	89

5.3.1.	Synthèse des sondes de type benzophénone	91
5.3.2.	Synthèse des analogues comportant les sondes de photo-affinité	93
5.3.2.1.	Formation du précurseur cyclique pour la réaction radicalaire	94
5.3.2.2.	Formation du centre quaternaire carboné par voie radicalaire.....	96
5.3.2.3.	Synthèse du précurseur fonctionnalisé pour la <i>N</i> -glycosylation.....	98
5.3.2.4.	<i>N</i> -Glycosylation	99
5.3.2.5.	Suite et fin de la synthèse des analogues de photo-affinité	102
5.4.	Preuves de structure	104
5.5.	Conclusion et perspectives.....	105
CONCLUSION GÉNÉRALE.....		108
PARTIE EXPÉRIMENTALE		110
	Remarques générales.....	110
	Solvants et chromatographie	110
	Instrumentation.....	111
RÉFÉRENCES		113
ANNEXE A : PARTIE EXPÉRIMENTALE ET CARACTÉRISATION.....		i
	Section expérimentale du Chapitre 4.....	ii
	Section expérimentale du Chapitre 5.....	xxxv

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Rôle cardioprotecteur des récepteurs purinergiques dans les cellules cardiovasculaires	3
Figure 2. Agonistes et antagoniste connus de certains récepteurs <i>P1</i>	4
Figure 3. Rôle des récepteurs <i>P2X₁</i> et <i>P2X₄</i> au niveau des muscles lisses vasculaires	5
Figure 4. Analogues d'AMP en tant qu'agonistes des récepteurs <i>P2X</i>	6
Figure 5. Équilibre entre les conformations <i>Nord</i> et <i>Sud</i> des ribonucléosides	7
Figure 6. Analogue de nucléoside bicyclo[3.1.0]hexane bloqué en conformation <i>Nord</i>	8
Figure 7. Nos analogues de nucléosides comportant un centre quaternaire carboné en C-2'	9
Figure 8. Nucléosides présents dans l'ADN et l'ARN ainsi que leurs bases azotées.....	12
Figure 9. Analogues de nucléosides utilisés contre le cancer	13
Figure 10. Analogues de nucléosides inhibiteurs de la transcriptase inverse pour le traitement du VIH	14
Figure 11. Inhibiteurs nucléosidiques de l'ADN polymérase utilisés en tant qu'antiviraux ...	15
Figure 12. Mort cellulaire observée <i>in vitro</i> chez des cardiomyocytes traités avec la doxorubicine en fonction de la dose de LCB-2122	66
Figure 13. Détermination de la configuration du carbone anomérique et du centre quaternaire pour les nucléosides 4.3a , 4.3b et 4.37a via des expériences nOe par RMN ¹ H	78
Figure 14. Détermination de la structure du nucléoside 4.42a par diffraction des rayons X ..	78
Figure 15. Principe général des sondes de photo-affinité	83
Figure 16. Exemples de fluorophores utilisés sur les sondes de photo-affinité.....	85
Figure 17. Insertion du fluorophore suite à la photo-activation.....	86
Figure 18. Exemples de sondes de photo-affinité liées à des composés bioactifs	88

Figure 19. Détermination de la configuration du carbone anomérique et du centre quaternaire pour le nucléoside **5.23a** via des expériences nOe par RMN ^1H 104

Figure 20. Déplacement chimique (δ) du carbone C-5 de la purine sur le composé **5.21** 105

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1. Stratégie générale de l'introduction d'une base azotée sur un sucre fonctionnalisé	16
Schéma 2. Assistance anchimérique permettant une glycosylation 1',2'- <i>trans</i>	16
Schéma 3. <i>N</i> -Glycosylation de thioglycosides par la méthode de Sugimura	17
Schéma 4. <i>N</i> -Glycosylation avec un groupement MOP anomérique en présence de TMSOTf	18
Schéma 5. Déplacement S _N 2 d'un chlorure anomérique pour synthétiser un nucléoside 1',2'- <i>cis</i>	19
Schéma 6. <i>N</i> -Glycosylation par transfert de phase sur un bromure anomérique	19
Schéma 7. Déplacement S _N 2 d'un fluorure anomérique en présence de SiF ₄ par la méthode de Noyori <i>et al.</i>	20
Schéma 8. Approche acyclique de Liotta pour la synthèse de l'AZT	21
Schéma 9. Synthèses de nucléosides et thionucléosides à partir de substrats acycliques	22
Schéma 10. Étapes clés impliquant la <i>N</i> -glycosylation, la formation du centre quaternaire carboné et l'aldolisation de Mukaiyama	24
Schéma 11. Synthèse de lactones β-hydroxy-α,α-disubstituées hautement fonctionnalisables	26
Schéma 12. Alkylations diastéréosélectives	27
Schéma 13. Substitution allylique dirigée par un transfert de chiralité 1,3	28
Schéma 14. Substitution allylique asymétrique catalysée par le palladium	29
Schéma 15. Aldolisation énantiosélective en présence d'organocatalyseur chiral	30
Schéma 16. Aldolisation à partir d'énolates d'amides α,α-disubstitués	31
Schéma 17. Synthèse <i>single-pot</i> de centre quaternaire carboné proposée par Marek <i>et al.</i>	32

Schéma 18. Réarrangement asymétrique de type isomérisation-Claisen.....	33
Schéma 19. Réarrangement énantiosélectif d'acyle-Claisen	33
Schéma 20. Premier transfert radicalaire d'un allyle rapporté par notre laboratoire	35
Schéma 21. Allylation radicalaire en présence d'un acide de Lewis bidentate	36
Schéma 22. Synthèse des précurseurs acycliques pour l'allylation radicalaire	37
Schéma 23. Allylations radicalaires intermoléculaires diastéréosélectives	38
Schéma 24. Transfert radicalaire intramoléculaire menant aux produits 2,3- <i>syn</i>	40
Schéma 25. Cyclisation radicalaire intramoléculaire : régiosélectivité	40
Schéma 26. Première réaction d'aldolisation de Mukaiyama rapportée en 1973	41
Schéma 27. Mécanisme général de la réaction de Mukaiyama.....	42
Schéma 28. Mécanisme de l'aldolisation catalysée par un fluorure	43
Schéma 29. Mécanisme de la réaction de Mukaiyama énantiosélective catalytique	44
Schéma 30. États de transition ouverts les plus stables selon les études de Wiest <i>et al.</i>	45
Schéma 31. États de transition proposés pour l'induction asymétrique 1,2.....	47
Schéma 32. États de transition proposés lors d'une addition sur un aldéhyde α -hydroxylé ...	49
Schéma 33. Rétrosynthèse de la première voie de synthèse développée	51
Schéma 34. Formation de l'énolate silylé	52
Schéma 35. Formation de l'aldéhyde et aldolisation de Mukaiyama	53
Schéma 36. États de transition menant aux produits <i>syn</i> et <i>anti</i> lors de l'aldolisation	53
Schéma 37. Préparation du précurseur silylé pour la réaction radicalaire	54
Schéma 38. Transfert radicalaire intramoléculaire suivi de la cyclisation <i>in situ</i>	56
Schéma 39. Mécanisme du transfert radicalaire intramoléculaire du groupement vinyle	57
Schéma 40. Formation potentielle du centre quaternaire carboné par transfert radicalaire intermoléculaire	58

Schéma 41. Synthèse de l'intermédiaire tétra-benzoylé	59
Schéma 42. Mécanisme proposé pour la <i>N</i> -glycosylation impliquant une assistance anchimérique	62
Schéma 43. Déprotection des alcools et substitution du chlore en C-6	63
Schéma 44. Dernières étapes de la première voie de synthèse	65
Schéma 45. Synthèse des analogues 4.29 et 4.32 à partir du même intermédiaire 4.28	69
Schéma 46. Synthèse de l'analogue possédant une adénine comme base azotée	70
Schéma 47. Synthèse de l'analogue benzylé en C-2'	76
Schéma 48. Principaux groupements photo-activables.....	84
Schéma 49. Utilisation de la chimie <i>Click</i> afin de lier le fluorophore avec la sonde.....	87
Schéma 50. Mécanisme de notre stratégie impliquant des benzophénones	90
Schéma 51. Synthèse de la première sonde.....	91
Schéma 52. Synthèse de la deuxième sonde	92
Schéma 53. Rétrosynthèse de la deuxième voie de synthèse développée.....	94
Schéma 54. Synthèse du précurseur cyclique pour la réaction radicalaire	96
Schéma 55. Synthèse du précurseur pour la <i>N</i> -glycosylation	99
Schéma 56. Synthèse de l'intermédiaire 5.21	102
Schéma 57. Formation des analogues comportant les sondes de photo-affinité	103
Schéma 58. Mécanisme impliquant une sonde de photo-affinité de type diazoture	107

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Formation du centre quaternaire carboné par alkylations successives	55
Tableau 2. <i>N</i> -Glycosylation avec différentes adénines modifiées	60
Tableau 3. Insertion sélective du monophosphate en position C-5'	64
Tableau 4. Déprotection du diéthyl monophosphate à partir du composé 1.5	68
Tableau 5. Insertion sélective du benzyle sur l'alcool en position C-2'	72
Tableau 6. Formation sélective du 2',3'-benzylidène à partir du substrat 4.2ab	73
Tableau 7. Benzylation de l'hydroxyle en C-2' avant la <i>N</i> -glycosylation.....	75
Tableau 8. Corrélation des déplacements chimiques (δ) du carbone C-5 des purines selon la régiochimie de la liaison <i>N</i> -glycosidique	79
Tableau 9. Insertion sélective du groupement PMB en position C-5	95
Tableau 10. Transfert radicalaire intramoléculaire en présence d'un PMB en position C-5...	97
Tableau 11. Activation de la position anomérique du furanose fonctionnalisé 5.31	100
Tableau 12. <i>N</i> -Glycosylation avec la 2,6-dichloropurine	101

LISTE DES ABRÉVIATIONS

[α]_D	Rotation optique (raie D du sodium)
Ac	Acétyle
ADA	Adénosine désaminase
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AIBN	Azobisisobutyronitrile
A.L.	Acide de Lewis
A.L._B	Acide de Lewis bidentate
A.L._M	Acide de Lewis monodentate
AMP	Adénosine monophosphate
app	Apparent
aq.	Aqueux ou aqueuse
ARN	Acide ribonucléique
atm.	Atmosphère
ATP	Adénosine triphosphate
AZT	3'-azido-3'-désoxythymidine
Bn	Benzyle
Bu	Butyle
Bz	Benzoyle
c	Concentration en g/100 mL
°C	Degré Celsius
cat.	Catalytique
CCM	Chromatographie sur couche mince
CCPA	2-chloro- <i>N</i> ⁶ -cyclopentyladénosine
conc.	Concentré
CSA	Acide camphosulfonique
Cy	Cyclohexyle
Cyclohex.	Cyclohexane

d	Doublet
<i>D</i>	<i>Dextrogyre</i>
δ	Déplacement chimique
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCK	Kinase déoxycytidine
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublet
ddd	Doublet de doublet de doublet
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DEAD	Diéthyl azodicarboxylate
DIBAL-H	Hydrure de diisobutylaluminium
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DMA	<i>N,N</i> -diméthylacétamide
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMI	1,3-diméthyl-2-imidazolidinone
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Dox	Doxorubicine
dt	Doublet de triplet
<i>E</i>	<i>Entgegen</i>
e.d.	Excès diastéréomérique
EDC·HCl	Hydrochlorure de <i>N</i> -(3-diméthylaminopropyl)- <i>N'</i> -éthylcarbodiimide
e.e.	Excès énantiomérique
éq. ou équiv.	Équivalent
Et	Éthyle
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
g	Gramme
GP	Groupe protecteur
h	Heure

hCNT	<i>Human concentrative nucleoside transporter</i>
hENT	<i>Human equilibrative nucleoside transporter</i>
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i>
HRMS	Spectrométrie de masse haute résolution
Hz	Hertz
<i>i</i>	<i>iso</i>
IR	Infrarouge
<i>J</i>	Constante de couplage
KHMDS	Bis(triméthylsilyl)amidure de potassium
<i>L</i>	<i>Lévogyre</i>
L	Litre
LDA	Diisopropylamidure de lithium
LiDBB	4,4'-di(tert-butyl)biphényle de lithium
LiHMDS	Bis(triméthylsilyl)amidure de lithium
m	Multiplet
M	Molaire (mol/L)
Me	Méthyle
mg	Milligramme
min	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
mol	Mole
MOP	3-méthoxy-2-pyridoxy
Ms	Méthanesulfonyle
MS	Spectrométrie de masse
MW	Masse moléculaire
N	Normale
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
nM	Nanomolaire
nOe	<i>Nuclear Overhauser effect</i>
Nu	Nucléophile

<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>o</i>-DPPB	<i>o</i> -diphénylphosphanylbenzoate
<i>p</i>	<i>para</i>
Ph	Phényle
PMB	<i>para</i> -méthoxybenzyle
ppm	Partie par million
PPTS	<i>p</i> -toluènesulfonate de pyridinium
Pr	Propyle
Pyr. ou py.	Pyridine
q	Quadruplet
Quant.	Quantitatif
R	<i>Rectus</i>
r.d.	Rapport diastéréomérique
rdt. ou rend.	Rendement
r.e.	Rapport énantiomérique
réf.	Référence
R_f	Facteur de rétention
RMN (NMR) ¹H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN (NMR) ¹³C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
RNR	Ribonucléotide réductase
s	Singulet
S	<i>Sinister</i>
SAR	<i>Structure-activity relationship</i>
sat.	Saturé
S_N1	Substitution nucléophile monomoléculaire
S_N2	Substitution nucléophile bimoléculaire
SOMO	<i>Singly occupied molecular orbital</i>
t	Triplet
<i>t</i>	<i>tert</i>
TBAF	Fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium
TBAI	Iodure de tétra- <i>n</i> -butylammonium

TBS ou TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TBSCI	Chlorure de <i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
td	Triplet de doublet
tdd	Triplet de doublet de doublet
Temp.	Température
Tf	Trifluorométhanesulfonyle
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TLC	<i>Thin layer chromatography</i>
TMS	Triméthylsilyle
Ts	<i>para</i> -Toluènesulfonyle
μ	Micro
UV	Ultraviolet
VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C
VHS	Virus de l'herpès simplex
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VZV	Virus du varicelle-zona
Z	<i>Zusammen</i>

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, il est important pour moi de remercier mon superviseur qui m'a donné l'opportunité de faire une maîtrise dans un domaine qui me passionne, soit le Professeur Yvan Guindon. Sa franchise, son expertise et ses nombreuses connaissances en chimie médicinale m'ont grandement aidé tout au long de mes trois années de maîtrise. Nos longues discussions à propos de la chimie qui dériveraient fréquemment sur une multitude d'autres sujets m'ont permis de voir différentes facettes du métier de chercheur. Je le remercie également de m'avoir enduré avec mes blagues et mes commentaires parfois assez loufoques.

J'aimerais également remercier les chercheurs associés, Dr Michel Prévost et Dre Starr Dostie, qui m'ont épaulé dans le laboratoire et qui ont su répondre à mes interrogations à de multiples reprises. Toutefois, j'ai un remerciement tout spécial à faire au Dr Philippe Mochirian qui a été mon premier superviseur à mes débuts en recherche. Il m'a énormément appris sur le métier de chimiste et il était toujours là pour me soutenir et m'aider lors des manipulations en laboratoire. Je garde d'excellents souvenirs de notre belle complicité. J'ai aussi une pensée pour tous les membres présents et passés du laboratoire (Dre Fabiola Becerril-Jiménez, Dre Laura Gillard, Audrey Belouin, Ryan Simard, Tommy Lussier et Marc-Olivier Labbé) que j'ai côtoyés durant ces années et avec qui j'ai partagé beaucoup de bons moments. De plus, j'aimerais souligner l'aide précieuse que m'as apportée David Clément sur ce projet lorsqu'il était en stage sous ma supervision. Pour finir, je dois également adresser un remerciement au laboratoire du Pr Mona Nemer à l'Université d'Ottawa pour leur collaboration indispensable afin d'étudier les activités biologiques de nos composés.

Mes études dans le groupe du Pr Guindon m'ont permis de rencontrer deux excellents chimistes pour qui j'ai un remerciement particulier à adresser, soit le Dr François Godin et Guillaume Tambutet. Au-delà de leurs énormes connaissances en chimie et du soutien important qu'ils m'ont apporté en laboratoire, ces deux collègues sont devenus des bons amis avec qui j'ai partagé de nombreux moments en dehors du travail afin de lâcher mon fou. Nos 5 à 7, les fins de semaine dans des chalets, les journées de ski et nos nombreuses folies m'ont permis d'apprécier davantage mes années d'étude en maîtrise. Finalement, je ne peux pas passer sous silence tout le support et la contribution incroyable de Guillaume lors de mes études, mais plus particulièrement lors de la rédaction de ce mémoire. On fait un *team* du tonnerre!

Bien sûr, rien de tout ceci ne serait possible sans la contribution de mes parents, ma famille et mes amis. Claudine et Paul, vous m'avez appuyé dans tous mes projets et c'est grâce à vous si j'ai pu aller à l'université pour étudier dans le mystérieux domaine de la chimie. Même dans les moments plus difficiles, car oui il y en a eu, j'ai toujours pu compter sur vous. J'aimerais aussi dire un énorme merci à Yves pour m'avoir soutenu avec ses nombreux conseils en tant que chimiste, ton aide m'a été très précieuse. Et pour finir, je dois chaleureusement remercier mon grand-père Pierre pour les innombrables mots d'encouragement et son implication afin que je puisse poursuivre mes études universitaires.

*The difference between stupidity and genius
is that genius has its limits.*

– Albert Einstein

CHAPITRE 1. INTRODUCTION

1.1. Mise en contexte

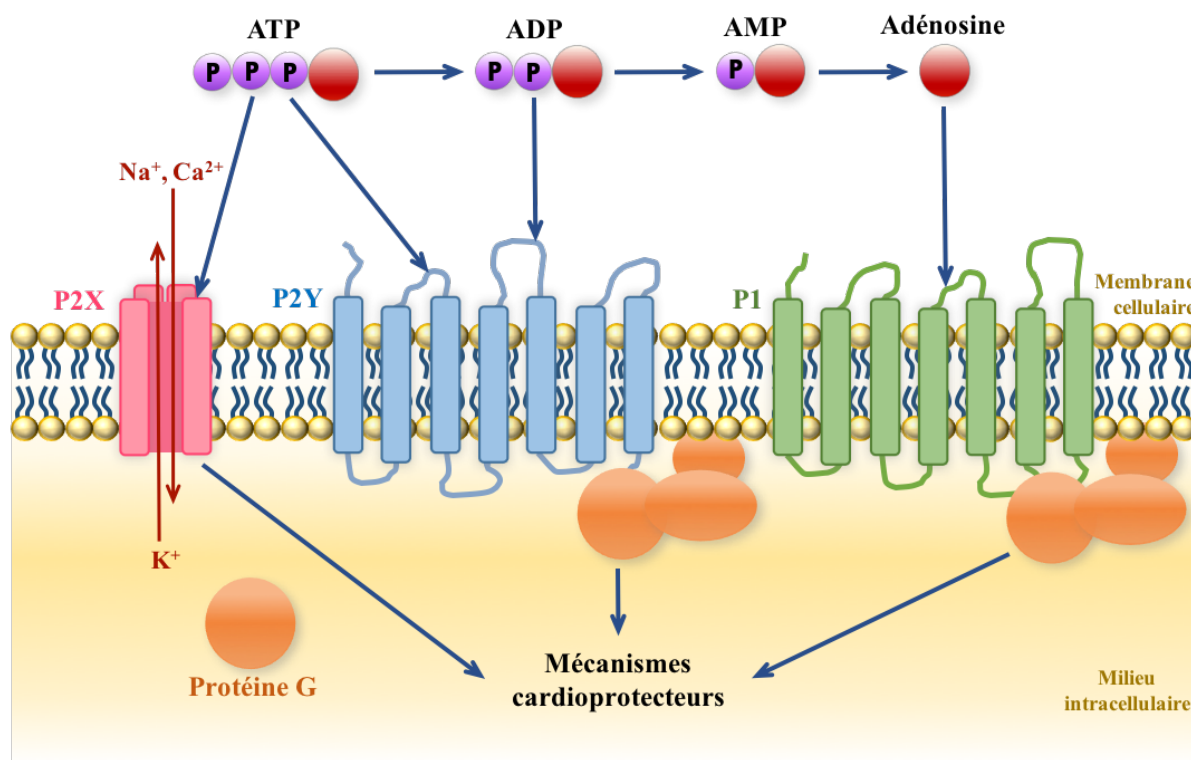
Dans le monde de la médecine moderne, les nouveaux traitements contre le cancer ont permis d'augmenter considérablement l'espérance de vie pour la majorité des patients atteints de ce fléau. Cependant, un des principaux effets secondaires néfastes des traitements anticancéreux est l'atteinte des fonctions cardiaques. Ces répercussions, se manifestant sous forme d'insuffisance cardiaque, affectent plusieurs survivants du cancer, tels que des enfants et des adultes traités pour la leucémie ou des tumeurs solides.^{1,2} Ce type de cardiotoxicité est également observé avec d'autres classes de médicaments, telles que les antibiotiques, les antidépresseurs et les antipsychotiques. L'hypertension, l'ischémie myocardique, l'arythmie cardiaque et l'infarctus du myocarde sont tous des effets cardiotoxiques qui sont associés à ces différents agents thérapeutiques.³ Il est important de mentionner que tout au long de notre vie, la croissance du cœur se fait par une augmentation de la taille des cellules musculaires cardiaques (cardiomyocytes), sans augmentation significative du nombre de cellules. Cette faible capacité proliférative des cardiomyocytes adultes implique que leur hypertrophie ou leur mort provoquées par des traitements possédant une cardiotoxicité est très dommageable pour le cœur.⁴ À ce jour, aucun traitement efficace n'est connu afin de traiter ces dégénérescences cardiaques dont le taux de survie est inférieur à celui de plusieurs cancers.³ Par conséquent, notre laboratoire, en collaboration avec celui du Pr Mona Nemer à l'Université d'Ottawa, s'est intéressé au développement d'une nouvelle classe d'analogues de nucléosides qui posséderaient des propriétés cardioprotectrices.

1.2. La régulation des fonctions cardiaques : les récepteurs purinergiques

Dans l'optique de synthétiser des composés cardioprotecteurs, notre laboratoire s'est penché sur l'étude de certains mécanismes reliés aux fonctions cardiaques. La fonction primaire du système cardiovasculaire est de pomper le sang efficacement dans tout le corps par des cycles de contraction-relaxation orchestrés par les myocytes cardiaques et vasculaires.⁴ La régulation de cette contractilité cellulaire et des multiples fonctions cardiaques est effectuée grâce à différents effecteurs biologiques. Parmi ceux-ci, de nombreuses études ont souligné que les récepteurs purinergiques semblent jouer un rôle biologique important au niveau du maintien des fonctions cardiovasculaires.⁵

Les récepteurs purinergiques sont des protéines transmembranaires qui sont divisées en trois principaux sous-groupes : *P2Y*, *P1* et *P2X* (Figure 1). Ils sont largement exprimés dans les cellules du système cardiovasculaire et sont majoritairement activés par les nucléosides et nucléotides extracellulaires de type adénosine. Une fois activés, les récepteurs purinergiques vont transmettre différentes informations à des effecteurs cellulaires selon la classe de récepteurs activés. L'insuffisance cardiaque, l'hypertension, l'ischémie myocardique, l'arythmie cardiaque, l'infarctus du myocarde et la maladie coronarienne sont tous des dégénérescences cardiaques qui peuvent être régulées à la baisse grâce aux mécanismes de cardioprotection dont les récepteurs purinergiques sont responsables. Par conséquent, il est possible de considérer ces récepteurs comme étant des cibles intéressantes pour le développement de stratégies thérapeutiques dans le domaine des maladies cardiovasculaires.⁵

Figure 1. Rôle cardioprotecteur des récepteurs purinergiques dans les cellules cardiovasculaires (modifiée à partir de Djerada *et al.*)⁶

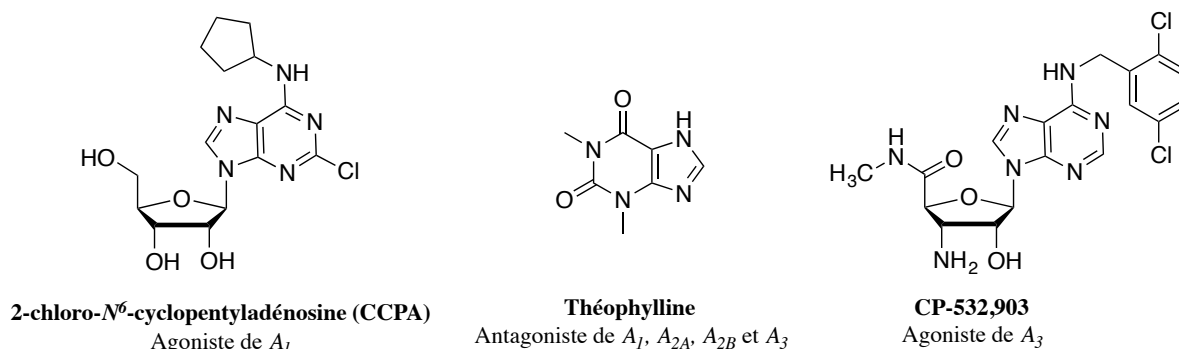


1.2.1. Les récepteurs membranaires *P2Y* et *P1*

Les récepteurs *P2Y* sont des protéines transmembranaires et ils sont divisés en deux sous-groupes (*P2Y_{1,2,4,6,11}* et *P2Y_{12,13,14}*) selon le type de protéines *G* avec lesquelles ils se lient. Les *P2Y* sont principalement activés par l'adénosine tri- et diphosphate (ATP et ADP), mais également par d'autres nucléotides présents dans le milieu extracellulaire (Figure 1). Des études ont démontré que suite à leur activation, ils se couplent avec différentes protéines *G* intracellulaires qui vont transmettre le signal venant du récepteur *P2Y* à différents effecteurs connus afin de générer différentes réponses cellulaires cardioprotectrices qui permettent, par exemple, de diminuer les risques d'infarctus du myocarde.⁶⁻⁷

Les récepteurs *PI*, également présents au niveau des membranes cellulaires des cardiomyocytes, possèdent une structure et un mécanisme d'action semblables à ceux des *P2Y*. Sous l'action de phosphatases, l'ATP extracellulaire peut se retrouver sous forme d'adénosine qui est reconnue par les différents récepteurs *PI*, soit *A₁*, *A_{2A}*, *A_{2B}* et *A₃* (Figure 1). Une fois activés, ces récepteurs envoient, par l'entremise de protéines *G*, des signaux intracellulaires à des effecteurs qui permettent entre autres de diminuer le rythme cardiaque, provoquer la vasorelaxation des artères coronaires et la relaxation des muscles cardiaques, ainsi que d'avoir des effets cardioprotecteurs en cas d'ischémie cardiaque.^{6,8} Par conséquent, les différentes études biologiques démontrant l'implication des récepteurs *P2Y* et *PI* au niveau des fonctions cardiaques permettent d'identifier ces récepteurs en tant que cibles thérapeutiques pour la synthèse d'agents cardioprotecteurs. Ces récepteurs se retrouvent toutefois dans d'autres effecteurs biologiques importants, tels que le système nerveux, ce qui pourrait engendrer des problèmes dans le cas de molécules non sélectives. Plusieurs composés sur le marché sont d'ailleurs connus comme étant des agonistes ou antagonistes des récepteurs purinergiques (Figure 2).

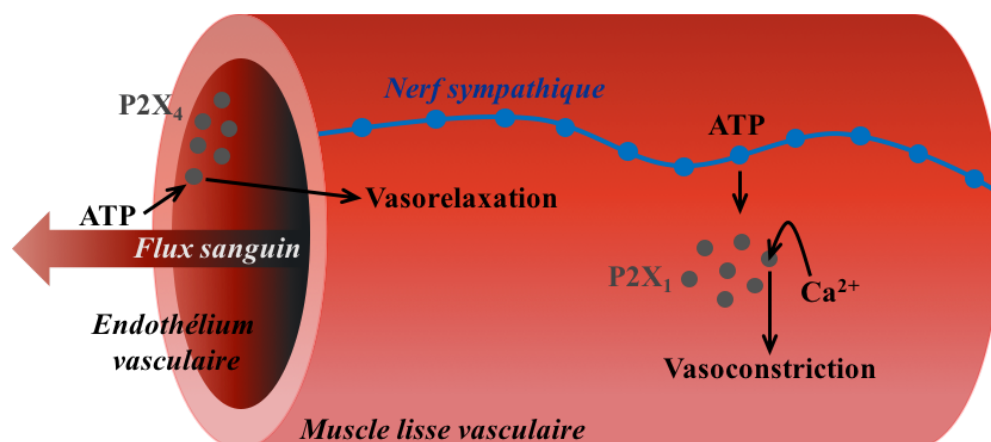
Figure 2. Agonistes et antagoniste connus de certains récepteurs *PI* ^{8c,9}



1.2.2. Les récepteurs membranaires *P2X*

Les récepteurs *P2X* sont quant à eux composés de sept différentes sous-unités protéiques (*P2X₁₋₇*) et agissent en tant que canaux ioniques qui sont activés par l'ATP extracellulaire (Figure 1). Au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires, l'ATP libérée par les nerfs sympathiques périvasculaires se lie aux sous-unités *P2X₁* (Figure 3). Cette activation permet aux récepteurs *P2X* de modifier leur forme afin d'ouvrir les canaux présents entre leurs sous-unités, ce qui permet la diffusion de cations Na^+ , Ca^{2+} et K^+ au travers de la membrane cellulaire. Cet afflux de Ca^{2+} engendre une dépolarisation de la membrane cellulaire, ce qui mène à une vasoconstriction. À l'inverse, une vasorelaxation est provoquée lorsque les sous-unités endothéliales *P2X₄* sont activées par l'ATP libérée par les cellules endothéliales en raison de la force de friction entre le flux sanguin et les parois vasculaires internes (Figure 3). Pour ce qui est des récepteurs *P2X* exprimés au niveau du cœur, ceux-ci vont augmenter la contractilité des cardiomyocytes.^{5c} Ainsi, avec ces informations en mains, il est possible d'identifier les récepteurs *P2X* comme étant aussi des cibles potentielles pour le développement d'agents thérapeutiques cardioprotecteurs.

Figure 3. Rôle des récepteurs *P2X₁* et *P2X₄* au niveau des muscles lisses vasculaires (modifiée à partir de Ralevic)^{5c}

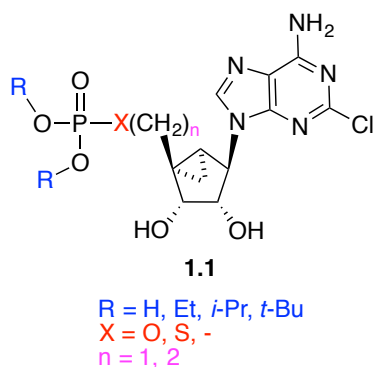


1.2.2.1. Des analogues d'adénosine monophosphate (AMP) en tant que molécules cardioprotectrices

Présentement, les traitements disponibles sur le marché ne permettent pas de prévenir et de traiter efficacement les problèmes d'insuffisance cardiaque. C'est pour cette raison que la synthèse d'agents cardioprotecteurs reste un objectif clinique majeur afin de prévenir les différents types de dégénérescence cardiaque.

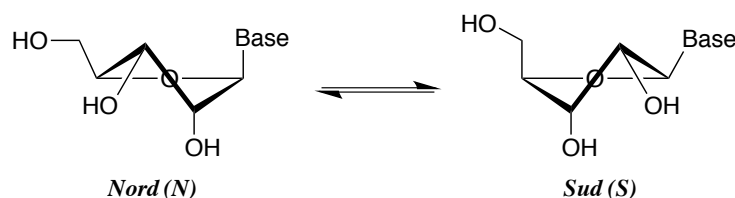
Au cours des dernières années, en sachant que les récepteurs $P2X$ sont étroitement liés au maintien des bonnes fonctions cardiaques, des analogues d'AMP (**1.1**) ont été synthétisés par les groupes de recherche de Liang et Jacobson afin d'agir comme agonistes (activateurs) des récepteurs $P2X$ au niveau du système cardiovasculaire.^{5a,10} Leurs travaux se sont basés sur des études qui démontraient qu'une surexpression des récepteurs $P2X_4$ chez des souris souffrant d'insuffisance cardiaque augmentait leurs fonctions cardiaques ainsi que leur espérance de vie. Après avoir synthétisé une banque de composés et fait des études de relation structure-activité (*SAR*), ces chercheurs ont déterminé que les analogues d'AMP présents à la Figure 4 sont ceux qui possèdent les propriétés cardioprotectrices les plus prometteuses.^{5a,10}

Figure 4. Analogues d'AMP en tant qu'agonistes des récepteurs $P2X$ ¹⁰



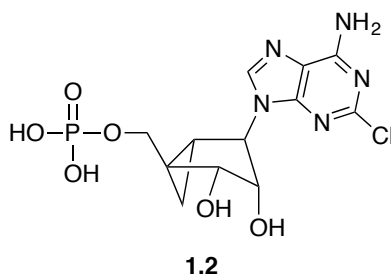
Ces analogues (Figure 4) sont des dérivés méthancarba de l'AMP contenant un système bicyclique rigide en remplacement du ribofuranose.¹⁰ Ce concept de rigidité en lien avec les nucléosides provient des conformations que les sucres cycliques peuvent adopter. En effet, les nucléosides possèdent une certaine flexibilité et peuvent se retrouver majoritairement sous deux conformations en l'équilibre. Celles-ci ont été désignées comme étant les conformations *Nord* et *Sud* (Figure 5). Lorsqu'un nucléoside se lie au site actif d'une enzyme (protéine), une seule des conformations interagit sélectivement avec le site actif. Ainsi, des analogues de nucléosides rigides ou bloqués (*locked nucleoside analogues*) sont synthétisés afin de posséder préférentiellement une conformation *Nord* ou *Sud*, ce qui permet d'augmenter l'affinité avec la cible enzymatique visée.¹¹

Figure 5. Équilibre entre les conformations *Nord* et *Sud* des ribonucléosides¹¹



Des études antérieures ont souligné que la conformation *Nord* est celle qui est préférée lors de l'activation des récepteurs *P2X* par des analogues de nucléosides.¹² Dans le cas des composés présentés à la Figure 4, les travaux de Marquez *et al.*¹¹ ont permis de démontrer que le bicycle formé du cyclopentane et du cyclopropane bloque le pseudo-ribofuranose dans la conformation *Nord* dû à l'emplacement du cyclopropane par rapport à la base azotée (Figure 6). Cette observation peut expliquer en partie le potentiel cardioprotecteur élevé de ces analogues.

Figure 6. Analogue de nucléoside bicyclo[3.1.0]hexane bloqué en conformation *Nord*¹¹



1.3. Perspectives de recherche : nos analogues de nucléosides cardioprotecteurs comportant un centre quaternaire carboné

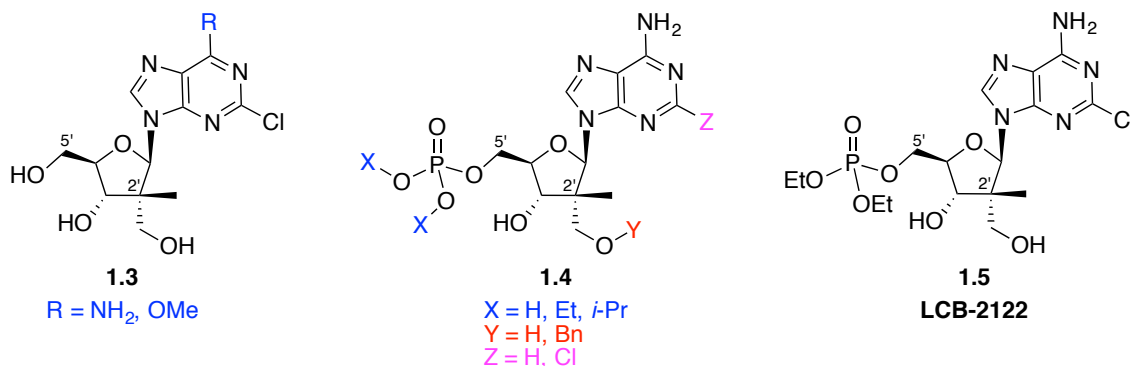
En se basant sur les différents mécanismes assurant les bonnes fonctions cardiaques ainsi que la structure des composés nucléosidiques étudiés en lien avec l'activation de ces mécanismes, notre laboratoire a conçu une nouvelle classe d'analogues de nucléosides avec des propriétés cardioprotectrices potentielles et comportant un centre quaternaire carboné en C-2'.

La synthèse sélective de ce type de centre quaternaire à l'intérieur d'une structure nucléosidique représente un défi important. Au cours des dernières décennies, notre groupe de recherche a développé une méthode utilisant la chimie des radicaux libres afin de synthétiser stéréosélectivement des centres stéréogéniques, et cette méthodologie peut être appliquée à la formation des liens carbone-carbone qui constituent le centre quaternaire. La présence de celui-ci pourrait créer un biais conformationnel afin que nos analogues soient moins flexibles que leurs homologues naturels et adoptent une conformation préférentielle (*Nord* ou *Sud*), ce qui pourrait aider à leur reconnaissance plus spécifique par certaines cibles thérapeutiques. Contrairement aux analogues de nucléosides bloqués (*locked nucleoside analogues*) qui vont se retrouver dans une conformation fixe, la présence du centre quaternaire carboné permettrait tout de même une certaine flexibilité du pseudo-ribofuranose afin d'élargir les possibilités de cibles

biologiques. De plus, le centre quaternaire en C-2' peut prévenir la reconnaissance et la dégradation de nos analogues par la ribonucléotide réductase (RNR), une enzyme responsable de la désoxygénation en C-2' des ribonucléosides.¹³

Cette nouvelle famille de molécules serait composée de dérivés d'adénosine comportant un groupement monophosphaté en C-5' qui pourrait agir en tant que prodrogue, ainsi qu'une adénine modifiée comme base azotée. Notre intention d'apporter une modification structurale à l'adénine est d'augmenter sa résistance face à la désamination induite par l'adénosine désaminase (ADA) une fois dans le milieu cellulaire.¹⁴ Après quelques années de travail en laboratoire, une banque d'analogues d'adénosine comportant un centre quaternaire carboné en C-2' (**1.3**, **1.4** et **1.5**) a été synthétisée avec succès (Figure 7). La synthèse détaillée de ces molécules fera l'objet du quatrième chapitre de ce mémoire.

Figure 7. Nos analogues de nucléosides comportant un centre quaternaire carboné en C-2'



1.4. Conclusion

Suite à différentes études biologiques faites en collaboration avec le laboratoire du Pr Mona Nemer à l'Université d'Ottawa, un composé est sorti du lot grâce à son potentiel cardioprotecteur, soit le **1.5 (LCB-2122)** (Figure 7). En effet, ces études ont principalement

démontré que l'analogue **LCB-2122** permet de régénérer significativement les fonctions cardiaques suite aux séquelles cardiotoxiques induites par certains traitements de chimiothérapie. Toutefois, même si les résultats biologiques préliminaires sont encourageants, le mécanisme d'action de cet analogue n'est toujours pas connu à ce jour. Par conséquent, le couplage d'une sonde de photo-affinité sur celui-ci afin de permettre l'étude de son mécanisme d'action biologique est donc un objectif qui sera discuté au dernier chapitre de cet ouvrage. Mais tout d'abord, avant d'approfondir sur les différentes synthèses de nos analogues de nucléosides cardioprotecteurs, il est important de mettre en contexte les nucléosides ainsi que leur importance dans le domaine pharmaceutique. De plus, une brève revue de la littérature sur les différentes réactions clés employées dans la synthèse de nos composés, telles que la création du centre quaternaire carboné, sera décrite dans les sections qui suivent.

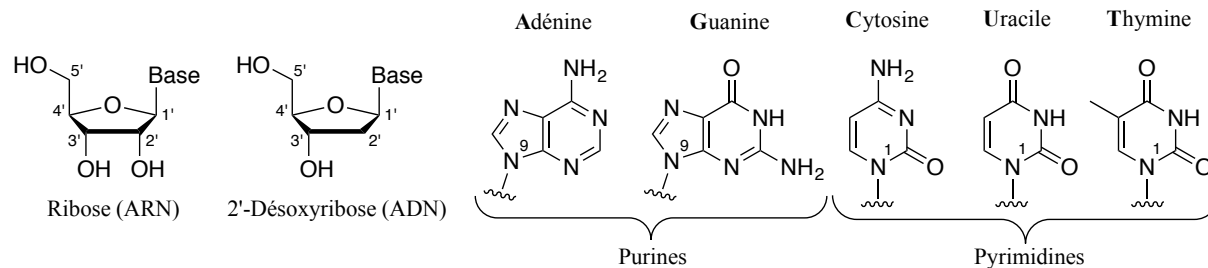
CHAPITRE 2. LES NUCLÉOSIDES : APPLICATIONS MÉDICALES ET MÉTHODES DE SYNTHÈSE

2.1. Introduction

Les nucléotides sont les éléments de base qui composent les acides nucléiques, tels que l'ARN (acide ribonucléique) et l'ADN (acide désoxyribonucléique). Ils ont un rôle central au niveau du métabolisme chez les êtres vivants, puisqu'ils sont responsables de l'apport en énergie au niveau des cellules et de la transmission de l'information génétique. Ils participent également à la signalisation cellulaire et sont les composants structuraux de plusieurs cofacteurs enzymatiques importants.¹⁵

Les nucléotides sont composés d'une base azotée, d'un sucre à cinq atomes de carbone et d'un phosphate. Les bases azotées : adénine (A), cytosine (C), guanine (G), thymine (T) et uracile (U) sont attachées en position C-1' du pentose avec une stéréochimie β . Elles peuvent être de types purines (A, G) ou pyrimidines (T, U, C) et sont liées au riboside par l'azote N-9 dans le cas des purines et par l'azote N-1 pour ce qui est des pyrimidines. Le groupement phosphate est quant à lui lié à l'hydroxyle en position C-5' et lorsque cette fonction n'est pas présente, on parle plutôt de nucléosides (Figure 8). Contrairement à l'ARN, les nucléotides de l'ADN ne possèdent pas de groupement hydroxyle en position C-2'. De plus, la base azotée thymine (T) ne se retrouve que dans l'ADN, tandis que l'uracile (U) est spécifique à l'ARN.¹⁵

Figure 8. Nucléosides présents dans l'ADN et l'ARN ainsi que leurs bases azotées

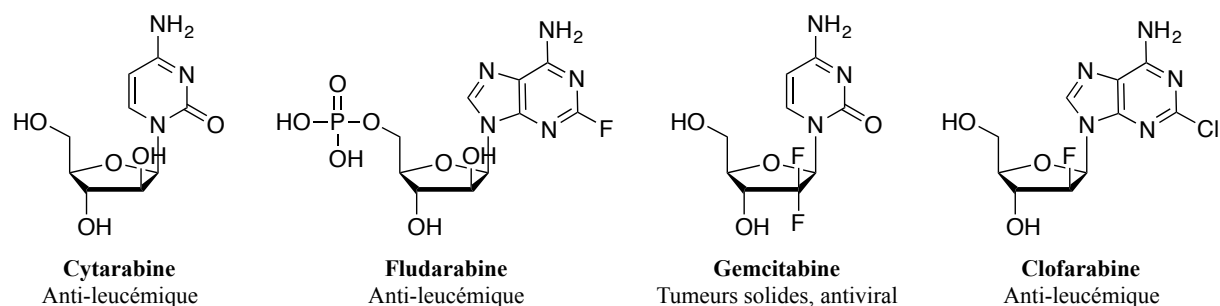


2.2. Les nucléosides en tant qu'agents anticancéreux et antiviraux

L'ADN et l'ARN sont des composantes primordiales dans la réplication cellulaire. La formation de cellules que l'on dit cancéreuses se produit lorsque cette réplication devient incontrôlée ou anormalement importante au niveau d'un tissu de l'organisme. Ainsi, l'inhibition de la biosynthèse de nucléotides, de l'ADN polymérase et d'autres enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN apparaît comme étant un objectif thérapeutique primordial.¹⁶

Les analogues de nucléosides ou de nucléotides sont des composés qui sont synthétisés et modifiés chimiquement afin d'imiter les propriétés biologiques de leurs homologues naturels. Ils peuvent jouer un rôle au niveau du métabolisme cellulaire en étant incorporés dans l'ADN ou l'ARN et ainsi potentiellement inhiber la division cellulaire. Ces composés peuvent donc avoir des effets thérapeutiques en inhibant la réplication des cellules cancéreuses ou de virus. De plus, en étant incorporés dans différents acides nucléiques, ces analogues peuvent inhiber l'action d'enzymes humaines et virales essentielles telles que l'ADN polymérase et la ribonucléotide réductase (RNR). Par conséquent, les analogues de nucléosides sont reconnus comme étant une classe importante d'agents anticancéreux et antiviraux.¹⁶

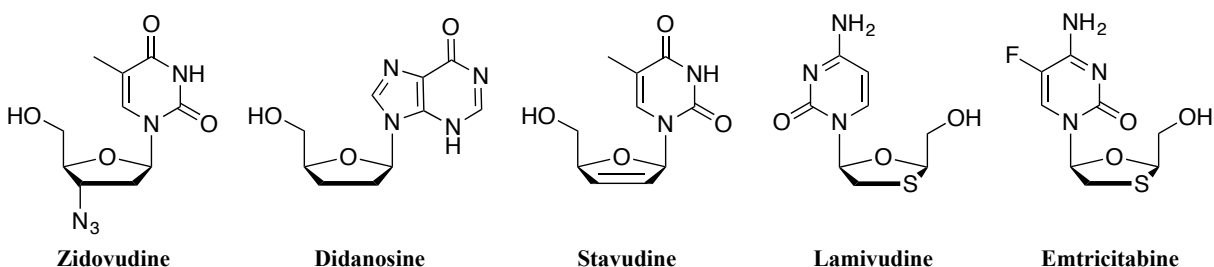
Figure 9. Analogues de nucléosides utilisés contre le cancer¹⁷



Les analogues présentés à la Figure 9 sont approuvés par la *Food and Drug Administration* (FDA) et utilisés comme agents anticancéreux. Ceux-ci agissent en tant qu'agents cytotoxiques dans les cellules cancéreuses en interférant de différentes façons sur le processus de synthèse des acides nucléiques. L'utilisation d'un groupement électroattracteur en C-2' procure une stabilisation supérieure du lien glycosidique face à l'hydrolyse enzymatique ou acide comparativement aux 2'-désoxyribonucléotides.¹⁸ Cet effet est noté chez la Gemcitabine et la Clofarabine. Les analogues de nucléosides entrent dans les cellules en utilisant des transporteurs de nucléosides spécifiques, soit les *human concentrative nucleoside transporter* (hCNT) et *human equilibrative nucleoside transporter* (hENT).¹⁸ Une fois à l'intérieur de la cellule, les analogues de nucléosides sont phosphorylés par différentes kinases, telles que la kinase déoxycytidine (DCK), afin de devenir des composés actifs.¹⁹ Les analogues de nucléosides mono-, di- et triphosphorylés peuvent ainsi inhiber l'action d'enzymes servant à la synthèse d'ADN, telles que la ribonucléotide réductase et l'ADN polymérase, et peuvent également être incorporés dans l'ADN et l'ARN lors de leur répllication, ce qui permet d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses par différents mécanismes d'action.¹⁶

Plusieurs analogues de nucléosides sont également utilisés en tant qu'agents thérapeutiques afin de traiter des infections virales, telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), l'hépatite C (VHC) et l'hépatite B (VHB). En effet, certains analogues de nucléosides peuvent inhiber l'action d'enzymes qui possèdent un rôle clé dans la réplication virale, tout en étant assez différents de leurs homologues naturels afin d'éviter d'être reconnus par les enzymes vitales des cellules saines.²⁰ Les analogues présentés à la Figure 10 possèdent précisément ces caractéristiques et sont utilisés comme inhibiteurs de la transcriptase inverse du VIH.²¹ Le matériel génétique du VIH est sous forme d'ARN et la transcriptase inverse est nécessaire pour convertir l'ARN en ADN afin de pouvoir répliquer le virus. Par conséquent, inhiber l'action de cette enzyme par l'utilisation de différents analogues de nucléosides permet d'interférer dans le mécanisme de réplication virale.²²

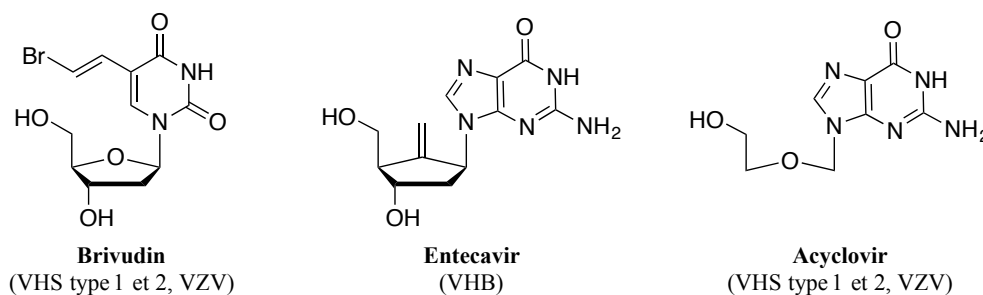
Figure 10. Analogues de nucléosides inhibiteurs de la transcriptase inverse pour le traitement du VIH^{20,21}



Ces analogues peuvent également être des substrats reconnus par l'ADN polymérase virale. Cependant, puisque ces inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse ne possèdent pas d'hydroxyle en C-3', leur incorporation cause la terminaison de l'élongation de la chaîne d'ADN, un autre moyen de bloquer le mécanisme de réplication virale.²² Les analogues présentés à la Figure 11 sont des exemples de différents inhibiteurs de l'ADN polymérase virale

qui sont utilisés afin d'interférer dans la prolifération de certains virus, tels que l'herpès simplex (VHS, type 1 et 2), l'hépatite B (VHB) et le varicelle-zona (VZV).^{20,21}

Figure 11. Inhibiteurs nucléosidiques de l'ADN polymérase utilisés en tant qu'antiviraux^{20,21}



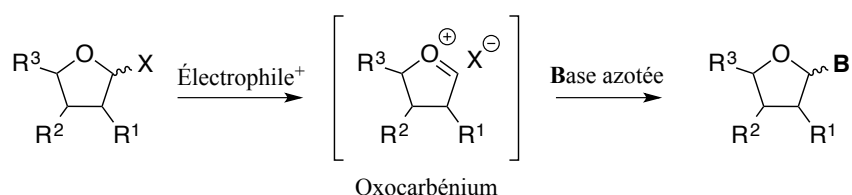
2.3. Méthodes de synthèse des nucléosides

L'importante utilisation des analogues de nucléosides en tant qu'agents anticancéreux et antiviraux a fait en sorte que plusieurs méthodes ont été développées afin de les synthétiser.²³ Ces méthodes de synthèse peuvent être catégorisées en deux principaux groupes : les approches divergentes et convergentes.²⁴

L'approche divergente se caractérise par le fait qu'elle utilise des nucléosides naturels dont la structure est modifiée afin de former les analogues désirés. L'avantage de cette approche est que la stéréochimie en position anomérique est déjà présente sur le substrat de départ, ce qui évite d'avoir à la contrôler lors de la synthèse. Cependant, cette approche comporte des limites, particulièrement lorsque des analogues de nucléosides possédant des bases azotées non naturelles sont visés.²⁴

Dans la stratégie convergente, contrairement à la première approche discutée, la base azotée est introduite généralement à la fin de la séquence synthétique sur l'intermédiaire de type oxocarbénium d'un sucre déjà modifié (Schéma 1). Cette méthode est la plus souvent utilisée, puisqu'elle permet une grande diversité au niveau de la stéréochimie du lien glycosidique et des bases azotées utilisées.²⁴

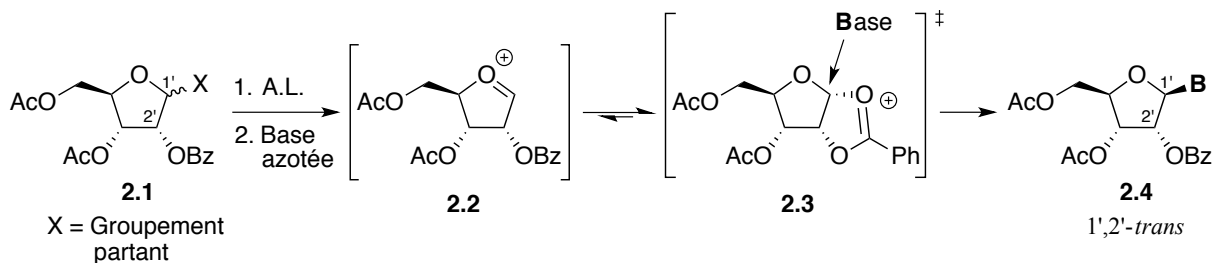
Schéma 1. Stratégie générale de l'introduction d'une base azotée sur un sucre fonctionnalisé



2.3.1. Approche convergente : stratégie cyclique

Cette méthode générale d'addition sur un intermédiaire oxocarbénium d'un sucre fonctionnalisé nécessite le développement de différents procédés afin d'additionner de façon stéréosélective la base azotée. Par exemple, dans le cas des analogues de nucléosides 1',2'-*trans*, l'introduction d'un groupement benzoate ou acétate en position C-2' (**2.1**) permet d'obtenir un effet anchimérique qui peut être utilisé afin de contrôler la configuration 1',2'-*trans* du lien glycosidique (Schéma 2).^{25,26}

Schéma 2. Assistance anchimérique permettant une glycosylation 1',2'-*trans*

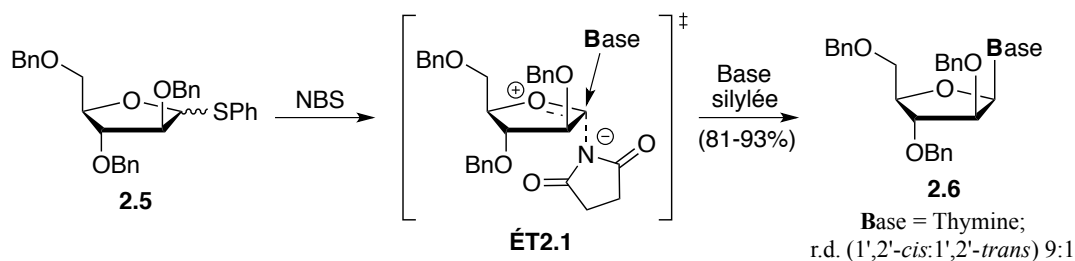


Une fois que le centre anomérique est activé par un acide de Lewis (électrophile) afin d'être sous la forme d'un intermédiaire oxocarbénium (**2.2**), le groupement ester (Bz ou Ac) en position C-2' stabilise celui-ci en délocalisant la charge positive. Ainsi, sur l'intermédiaire **2.3** bicyclique, la face inférieure encombrée force l'approche de la base azotée par la face supérieure du sucre, ce qui mène au nucléoside **2.4** possédant une configuration 1'-2'-*trans*.^{26,27} Cette stratégie de *N*-glycosylation est celle qui est utilisée afin de former stéréosélectivement les analogues de nucléosides cardioprotecteurs β qui seront discutés dans ce mémoire. Toutefois, cette méthode ne permet pas d'avoir accès aux analogues de nucléosides 1',2'-*cis*, ceux-ci représentant un défi synthétique important puisque la base azotée (nucléophile) doit être insérée sur le sucre fonctionnalisé par la face la plus encombrée.²⁷ Différents moyens ont donc été étudiés afin de permettre l'accès à ces analogues 1',2'-*cis*.

2.3.1.1. *N*-Glycosylation par déplacement S_N2 de type paire d'ions intime

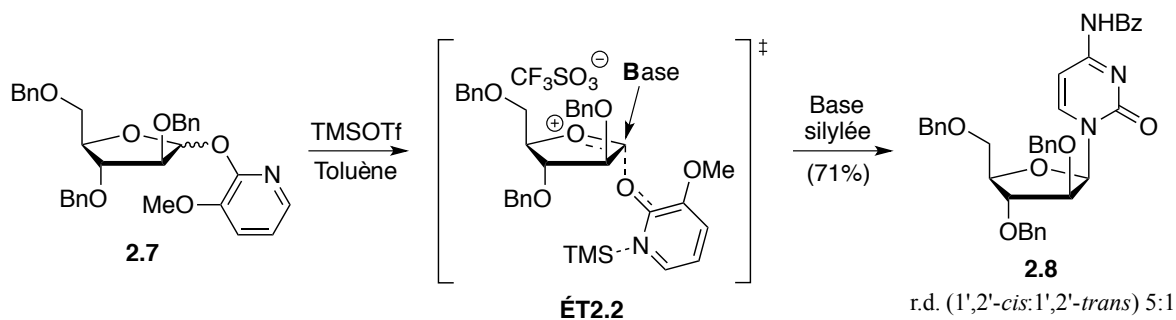
Le groupe de Sugimura a rapporté une méthode pour la synthèse stéréosélective de nucléosides 1',2'-*cis* comportant des pyrimidines (Schéma 3).²⁸ Le mélange de thioglycosides **2.5** est activé par la *N*-bromosuccinimide (NBS) afin de former une paire d'ions intime **ÉT2.1** où l'anion succinimide se positionne sur la face la moins encombrée afin de minimiser l'encombrement stérique. Les bases silylées de type pyrimidines peuvent ensuite s'ajouter par un mécanisme de type S_N2 sur la paire d'ions, ce qui mène au nucléoside 1',2'-*cis* **2.6**.²⁸

Schéma 3. *N*-Glycosylation de thioglycosides par la méthode de Sugimura²⁸



Une stratégie semblable a été développée par le professeur Hanessian afin d'obtenir des nucléosides 1',2'-*cis* comportant des purines ou des pyrimidines (Schéma 4).²⁹ Le groupement 3-méthoxy-2-pyridoxy (MOP) en position anomérique des furanosides **2.7** est activé en présence de TMSOTf afin de former un intermédiaire **ÉT2.2** de type paire d'ions où l'anion se positionne de la même façon que l'intermédiaire **ÉT2.1** présenté ci-haut. Le nucléoside 1',2'-*cis* **2.8** est obtenu suite à un déplacement de type S_N2 par une base silylée.²⁹

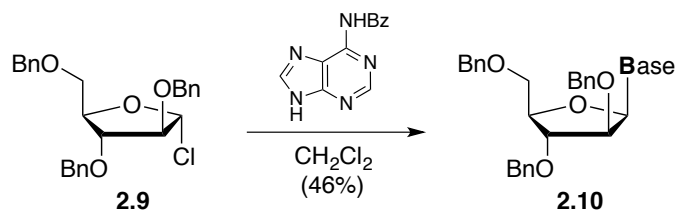
Schéma 4. *N*-Glycosylation avec un groupement MOP anomérique en présence de TMSOTf²⁹



2.3.1.2. *N*-Glycosylation par déplacement S_N2 d'un haloacétal

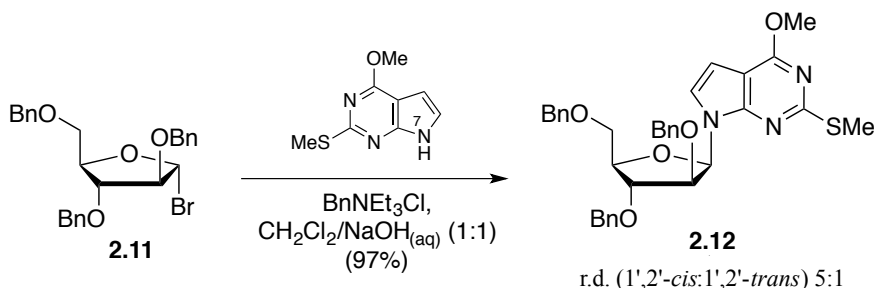
La synthèse d'analogues de nucléosides 1',2'-*cis* en utilisant des haloacétals a été rapportée précédemment par Fletcher,³⁰ Keller,³¹ Glaudemans,^{32,33} Shen, Lewis, Ruyle³⁴ et Montgomery.³⁵ En effet, le déplacement d'un chlorure ayant une stéréochimie connue en position anomérique (**2.9**) par des pyrimidines ou des purines selon la méthode d'Hilbert-Johnson³⁶ se produit avec une inversion de configuration en passant par un mécanisme de type S_N2 afin de former le nucléoside **2.10** (Schéma 5).³²

Schéma 5. Déplacement S_N2 d'un chlorure anomérique pour synthétiser un nucléoside 1',2'-*cis*



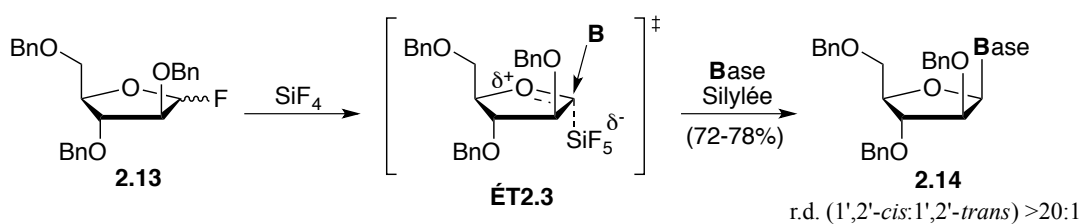
D'autres halogénures anomériques peuvent également être utilisés afin d'obtenir une *N*-glycosylation sélective par un déplacement S_N2 (Schéma 6). Seela a développé une méthode de glycosylation par transfert de phase sur un bromure anomérique (**2.11**) réagissant avec des purines à l'aide d'un système biphasique pour ainsi former majoritairement le produit de couplage 1',2'-*cis* (**2.12**).³⁷ La phase aqueuse du système biphasique permet de solubiliser les bases azotées qui sont difficilement solubles dans des solvants organiques. En conditions fortement basiques, les purines se retrouvent sous forme anionique et l'ajout d'un catalyseur de transfert de phase, soit le chlorure de benzyltriéthylammonium, permet de former une paire d'ions relativement hydrophobe afin que les purines soient solubilisées en phase organique. La réaction de glycosylation peut ainsi se produire avec l'haloacétal (**2.11**) présent en milieu organique. Toutefois, les bromures anomériques se décomposent graduellement dans les conditions fortement basiques de glycosylation par transfert de phase, d'où l'importance d'augmenter la solubilité et la réactivité de la base azotée.

Schéma 6. *N*-Glycosylation par transfert de phase sur un bromure anomérique³⁷



Il est aussi possible de faire réagir un fluorure anomérique (**2.13**) avec une purine ou une pyrimidine silylée en présence de tétrafluorure de silane (SiF_4) pour générer sélectivement le nucléoside **2.14** (Schéma 7).³⁸ L'intermédiaire ÉT2.3 du type paire d'ions serait à l'origine de la sélectivité obtenue (voir section 2.3.1.1). Cependant, cette stratégie employant un fluorure donne des sélectivités plutôt faibles lorsqu'elle est appliquée sur les ribofuranosides correspondants. Aucune hypothèse n'est suggérée afin d'expliquer cette diminution de la sélectivité dans le cas des ribofuranosides.

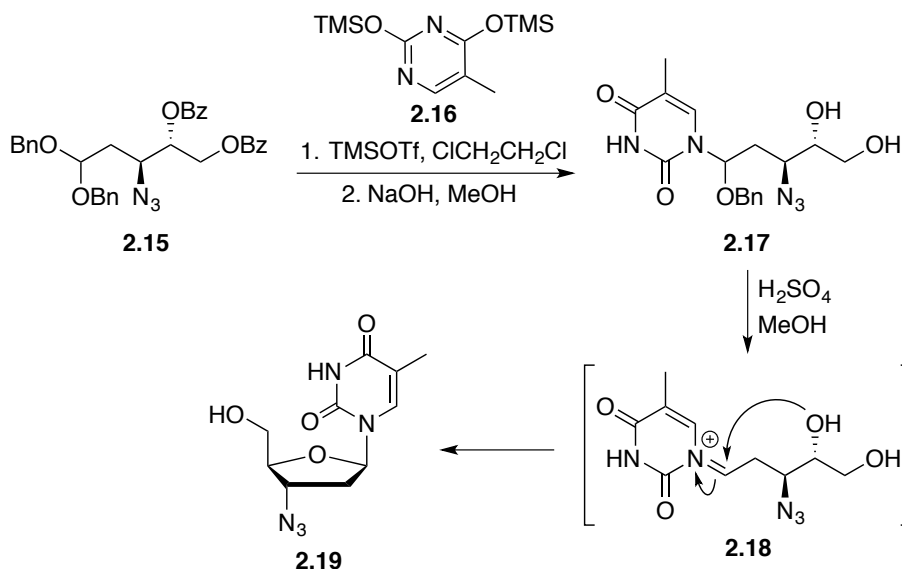
Schéma 7. Déplacement $\text{S}_{\text{N}}2$ d'un fluorure anomérique en présence de SiF_4 par la méthode de Noyori *et al.*³⁸



2.3.2. Approche convergente : stratégie acyclique

Les travaux de Liotta³⁹ sur la synthèse de la 3'-azido-3'-désoxythymidine (AZT) ont été dans les premiers à utiliser une stratégie acyclique (Schéma 8). Cette méthode varie des autres par le fait que le couplage de la base azotée se fait sur un substrat acyclique qui est ensuite cyclisé afin d'obtenir des analogues de nucléosides. L'approche de Liotta utilise l'acétal acyclique **2.15** sur lequel la base azotée (**2.16**) est additionnée. L'iminium **2.18** est ensuite généré en condition acide et la cyclisation se fait *in situ* par un mécanisme de type $\text{S}_{\text{N}}1$ afin de former sélectivement l'anomère β de l'AZT (**2.19**).

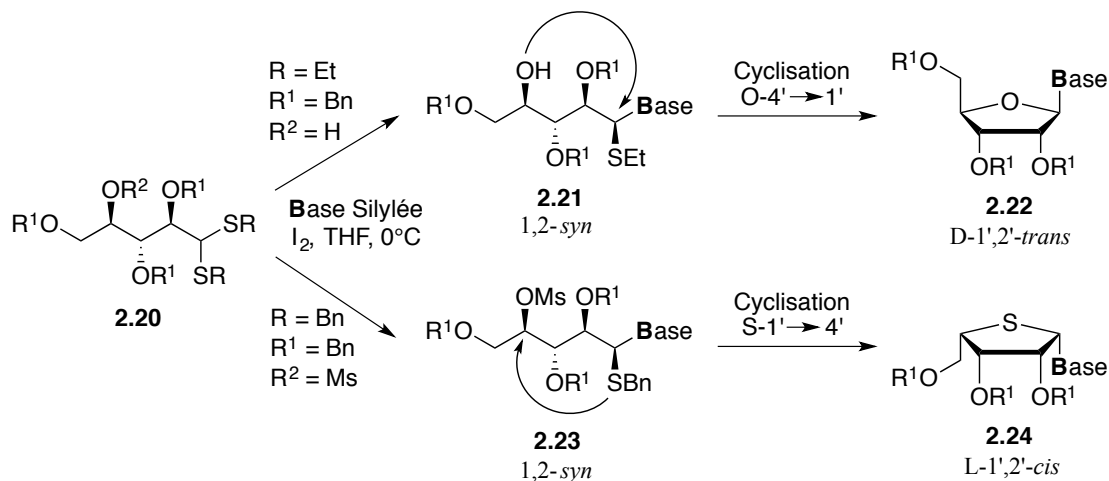
Schéma 8. Approche acyclique de Liotta pour la synthèse de l'AZT³⁹



En se basant sur la stratégie conçue par Liotta, nous avons développé une méthode qui implique le couplage diastéréosélectif de la base azotée sur un substrat acyclique (Schéma 9).⁴⁰ Le couplage d'une purine ou pyrimidine sur le dithioacétal **2.20** en présence d'iode permet de générer majoritairement le substrat acyclique 1,2-*syn* **2.21**. L'induction asymétrique lors de cette étape de couplage est primordiale. En effet, la cyclisation subséquente se fait selon un mécanisme de type S_N2 avec une inversion de configuration en utilisant l'acide de Lewis Me₂S(SMe)BF₄ afin d'obtenir le D-nucléoside 1',2'-*trans* **2.22**. Cette stratégie permet également d'accéder à des thionucléosides en modifiant les groupements protecteurs utilisés et les conditions de cyclisation afin d'obtenir, par exemple, le L-thionucléoside 1',2'-*cis* **2.24** à partir du substrat acyclique **2.23**. Ce type d'approche convergente a l'avantage de procurer une grande flexibilité de fonctionnalisation en lien avec les précurseurs acycliques, puisque ceux-ci peuvent être générés en utilisant les multiples méthodes de synthèses énantiosélectives et

diastéréosélectives connues. Le défi de cette approche demeure toutefois l'induction de la chiralité désirée lors du couplage de la base azotée à la première étape.

Schéma 9. Synthèses de nucléosides et thionucléosides à partir de substrats acycliques⁴⁰



2.4. Conclusion

En résumé, les analogues de nucléosides possèdent un rôle important dans le domaine médical puisqu'ils peuvent être incorporés dans l'ADN ou l'ARN et ainsi potentiellement inhiber la réplication cellulaire. Ces composés peuvent donc avoir des effets thérapeutiques en empêchant la reproduction des cellules cancéreuses ou de virus, mais également en inhibant l'action d'enzymes humaines et virales essentielles telles que l'ADN polymérase et la ribonucléotide réductase (RNR). Le rôle primordial des analogues de nucléosides comme agents anticancéreux et antiviraux a fait en sorte que plusieurs méthodes ont été développées au fil des décennies afin de les synthétiser de façon efficace. En effet, les différentes approches convergentes ainsi que les méthodes de *N*-glycosylation discutées ont permis de souligner la variété de stratégies pouvant être appliquées afin de synthétiser des analogues de nucléosides.

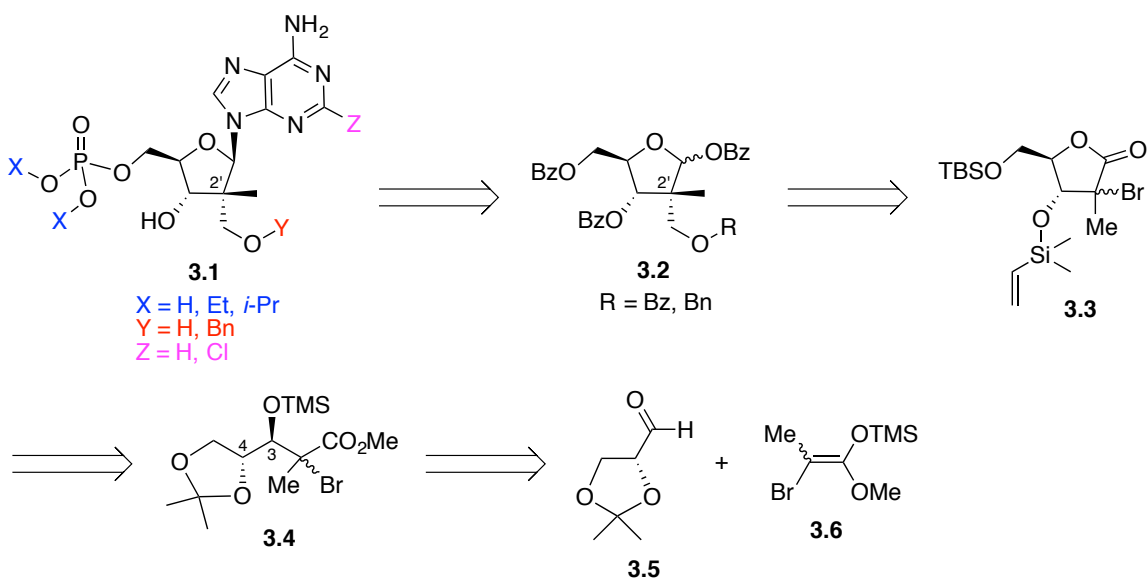
Finalement, la méthode acyclique développée par notre laboratoire a été mise de l'avant afin de démontrer sa grande utilité lors de la synthèse stéréosélective de nucléosides fonctionnalisés.

CHAPITRE 3. SYNTHÈSE DE CENTRES QUATERNAIRES CARBONÉS ET ALDOLISATION DE MUKAIYAMA

3.1. Introduction

Afin de synthétiser nos différents analogues de nucléosides cardioprotecteurs (**3.1**), une approche convergente cyclique a été utilisée, puisque le couplage de la base azotée par *N*-glycosylation se fait sur un furanose déjà fonctionnalisé (**3.2**) (Schéma 10). Celui-ci contient un des éléments clés de nos analogues cardioprotecteurs, soit le centre quaternaire carboné en C-2'. L'obtention du précurseur **3.3** pour la formation du centre quaternaire par transfert radicalaire intramoléculaire se fait à partir du substrat acyclique **3.4** ayant une configuration 3,4-*anti*. Une méthode efficace et largement utilisée afin de synthétiser ce type de structure acyclique (**3.4**) est l'aldolisation de Mukaiyama.

Schéma 10. Étapes clés impliquant la *N*-glycosylation, la formation du centre quaternaire carboné et l'aldolisation de Mukaiyama



Cette combinaison de réactions nous permet de synthétiser nos analogues à partir de substrats acycliques simples (**3.5** et **3.6**) qui ne sont pas des sucres ou des nucléosides, ce qui augmente grandement la diversité des fonctions possibles sur nos composés, autant au niveau de la base azotée que du furanose.

Par conséquent, ce chapitre discute en premier lieu des différentes méthodes de synthèse des centres quaternaires carbonés et de la stratégie radicalaire développée par notre laboratoire, pour ensuite discuter en deuxième lieu de l'aldolisation de Mukaiyama et de son application dans notre voie de synthèse.

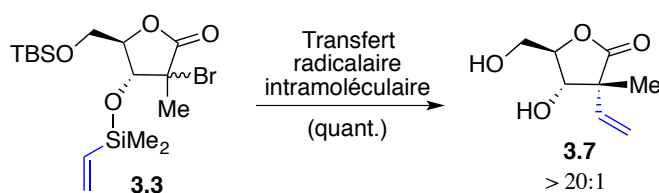
3.2. Synthèse de centres quaternaires carbonés afin de former des lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées

Au cours des dernières décennies, plusieurs méthodes efficaces ont été développées afin de former sélectivement des configurations précises de centres stéréogéniques comportant un hydrogène comme substituant. Cependant, la formation stéréosélective de centres quaternaires comportant quatre différents substituants carbonés (*all-carbon quaternary centers*) représente un défi synthétique important dans le domaine de la chimie organique moderne.⁴¹ Ce type de centres quaternaires se retrouve dans une multitude de produits naturels qui possèdent des activités biologiques, tels que la cortisone ou la morphine. Par contre, la majorité de ces composés actifs qui sont disponibles sur le marché sont dérivés de précurseurs naturels qui possèdent déjà des centres quaternaires carbonés, ce qui démontre le manque de méthode efficace afin d'obtenir des centres quaternaires carbonés par synthèse en laboratoire. Une des principales difficultés dans la construction des centres quaternaires carbonés est

l'encombrement stérique important qui est engendré lors de leur formation. De plus, la synthèse stéréosélective de ces centres nécessite la formation de liens carbone-carbone par des réactions qui permettent d'obtenir l'orientation désirée dans l'espace pour chacun des quatre substituants carbonés.^{41d}

Depuis de nombreuses années, notre laboratoire a développé une expertise dans la synthèse stéréosélective de centres quaternaires carbonés qui sont hautement fonctionnalisables, et ce en utilisant la chimie radicalaire ainsi qu'un contrôle par le substrat afin d'accéder, par exemple, à des lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées (**3.7**) qui seront impliquées lors des synthèses discutées dans cet ouvrage (Schéma 11). Tout d'abord, la prochaine section présente une revue générale de la littérature afin de souligner les différentes méthodes permettant l'accès à des centres quaternaires carbonés sur des composés analogues, pour ensuite présenter la méthodologie radicalaire conçue par notre laboratoire.

Schéma 11. Synthèse de lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées hautement fonctionnalisables



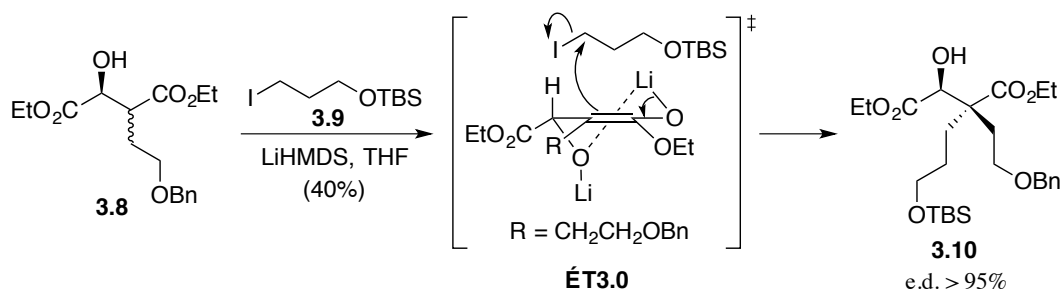
3.2.1. Alkylations diastéréosélectives

Afin de synthétiser des lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées, la quasi-totalité des méthodes employées dans la littérature forment leurs centres quaternaires carbonés sur des substrats acycliques qui peuvent ensuite être cyclisés de différentes manières pour ainsi former

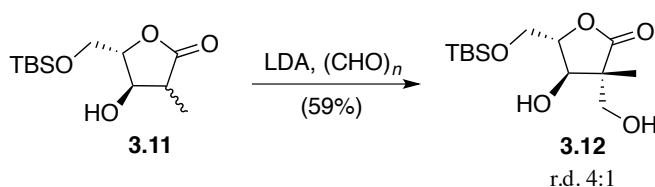
les lactones désirées.⁴¹ Une méthode couramment utilisée est l'alkylation d'un centre stéréogénique tertiaire adjacent à un centre chiral déjà existant (Schéma 12).^{41e} En effet, en se basant sur les travaux de Fráter⁴², Jia *et al.*⁴³ font réagir le β -hydroxy ester **3.8** avec 4 équivalents de LiHMDS afin de rendre nucléophile le carbone en position α de l'ester. Le chélate à six membres **ÉT3.0** renfermant un énolate est ainsi formé en présence de lithium. Cet intermédiaire nucléophile (**ÉT3.0**) peut ensuite réagir avec l'espèce électrophile **3.9** par la face opposée à celle du β -hydroxyle afin de minimiser l'encombrement stérique lors de l'attaque nucléophile. Le produit d'alkylation *anti* (**3.10**) est ainsi généré diastéroselectivement.

Schéma 12. Alkylations diastéroselectives

(a) Jia *et al.*



(b) Schrempp *et al.*



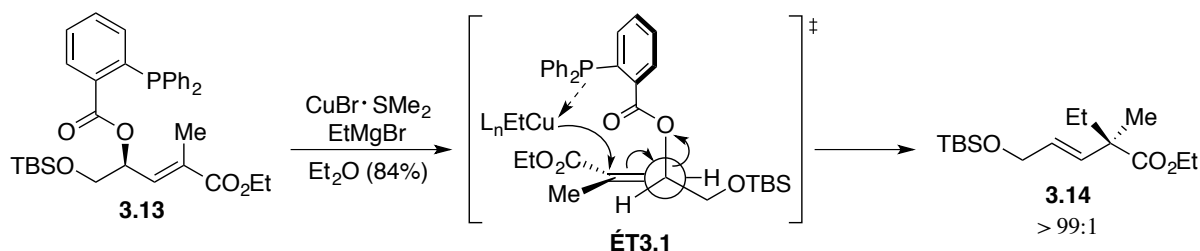
Ce type d'alkylation stéréosélective peut également s'appliquer directement sur des lactones, tel que souligné par Schrempp *et al.*⁴⁴ (Schéma 12).⁴⁵ La lactone **3.11** en présence de LDA et de paraformaldéhyde peut subir une alkylation en position α afin de générer la lactone

β -hydroxy- α,α -disubstituées **3.12**. Par contre, cette réaction obtient un rapport diastéréomérique (r.d.) plutôt faible et peu d'exemples sont rapportés dans la littérature. Il est important de mentionner que ce type d'alkylation obtient des rendements généralement faibles et qu'il ne peut pas être effectué sur des grandes quantités de substrat à cause de l'obtention d'un milieu réactionnel hétérogène en présence du dianion généré en conditions fortement basiques.⁴³

3.2.2. Substitutions allyliques

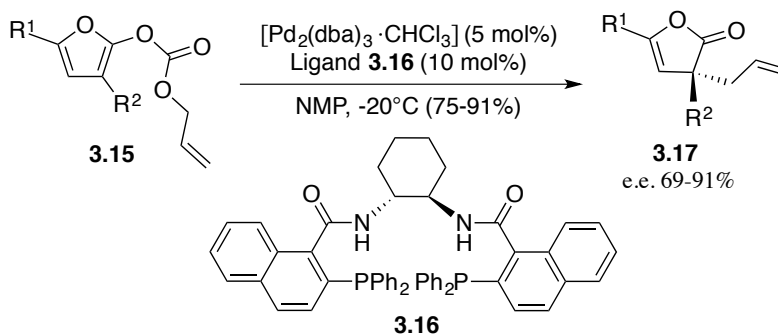
Une autre stratégie efficace afin de former un centre quaternaire carboné en contrôlant la stéréochimie désirée est d'utiliser un transfert de chiralité 1,3 à partir d'un centre stéréogénique déjà présent sur le substrat acyclique (Schéma 13).^{41c} Breit *et al.*⁴⁶ ont démontré que la chiralité du groupement partant *o*-diphénylphosphanylbenzoate (*o*-DPPB) (**3.13**) permet de diriger la configuration absolue du centre quaternaire formé en passant par une substitution allylique en présence de cuivre (CuBr·SMe₂) et d'un réactif de Grignard (EtMgBr). En effet, le groupement *o*-DPPB se coordonne avec l'organocuprate formé (ÉT3.1) pour que la substitution allylique se fasse de façon *syn* par rapport au groupement *o*-DPPB qui agit en tant que groupement dirigeant et partant lors de la réaction. L'ester α,α -disubstitué **3.14** est ainsi formé avec une sélectivité élevée et il est possible de fonctionnaliser l'alcène présent pour ensuite faire une cyclisation afin d'obtenir une lactone β -hydroxy- α,α -disubstituée.

Schéma 13. Substitution allylique dirigée par un transfert de chiralité 1,3



Il est également possible d'appliquer la formation sélective de centres quaternaires carbonés par substitution allylique sur des substrats cycliques afin de former directement des lactones α,α -disubstituées.^{41g} En se basant sur les travaux précédents de Trost *et al.*⁴⁷, le groupe de Cossy a rapporté une méthode qui met de l'avant une substitution allylique asymétrique catalysée par le palladium et impliquant une décarboxylation (Schéma 14).⁴⁸ En effet, le substrat cyclique **3.15** en présence du catalyseur $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$ et du ligand chiral **3.16** subit une alkylation allylique asymétrique en passant par un intermédiaire de type Trost π -allyle-palladium⁴⁹ ainsi qu'une décarboxylation. La chiralité et l'encombrement du complexe formé avec le ligand **3.16** permettent de contrôler la face d'attaque lors de l'alkylation. La lactone α,α -disubstituée **3.17** est obtenue avec des sélectivités satisfaisantes.

Schéma 14. Substitution allylique asymétrique catalysée par le palladium

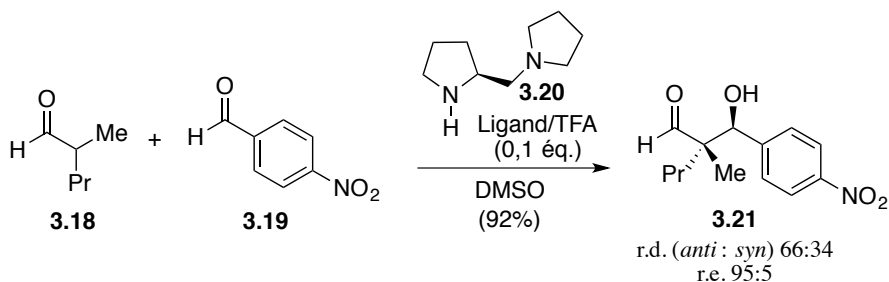


3.2.3. Aldolisations

Les réactions d'aldolisation entre des énolates tétrasubstitués et des aldéhydes permettent également d'obtenir des centres quaternaires carbonés. Cependant, cette approche peut représenter un défi important dû au fait que la stéréochimie des énolates tétrasubstitués doit être contrôlée, mais également puisque l'orientation de l'énolate et la face d'attaque sur l'aldéhyde doivent être contrôlées lors de la réaction d'aldolisation asymétrique.^{41c}

L'utilisation d'un organocatalyseur chiral est l'une des méthodes qui peut être employée afin de diriger les sélectivités obtenues lors de ces réactions d'aldolisation permettant la formation de centres quaternaires carbonés.^{41c} En effet, Barbas *et al.*⁵⁰ ont rapporté une réaction d'aldolisation intermoléculaire énantiosélective entre des aldéhydes α,α -dialkylés (**3.18**) qui agissent en tant que nucléophiles et des aldéhydes aromatiques (**3.19**) en présence d'une quantité catalytique de la diamine chirale **3.20** (Schéma 15). Cette réaction passe par un intermédiaire énamine dont la chiralité permet de diriger la sélectivité obtenue lors de l'attaque sur l'aldéhyde aromatique pour ainsi obtenir le produit d'aldolisation **3.21** comportant un centre quaternaire carboné avec une bonne énantiosélectivité.

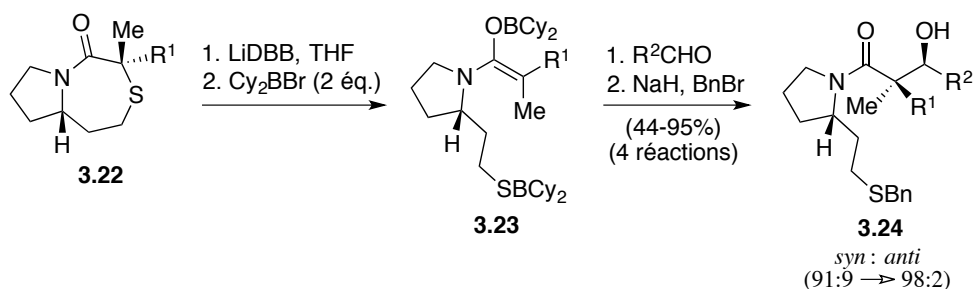
Schéma 15. Aldolisation énantiosélective en présence d'organocatalyseur chiral



Dans le but de surmonter le défi synthétique important qu'est celui d'obtenir des énolates tétrasubstitués acycliques de façon stéréosélective, Manthorpe et Gleason ont développé une méthode intéressante afin de préparer sélectivement des énolates d'amides α,α -disubstitués possédant majoritairement une stéréochimie *Z* (Schéma 16).⁵¹ Effectivement, la réduction sélective des lactames thioglycolates bicycliques **3.22** se fait en présence de LiDBB afin d'obtenir des énolates d'amides *Z* (**3.23**) en fonction de la stéréochimie des groupements alkyles en position α sur les lactames de départ. Gleason a par la suite développé une réaction d'aldolisation qui emploie ces énolates afin d'obtenir des amides β -hydroxy- α,α -disubstituées

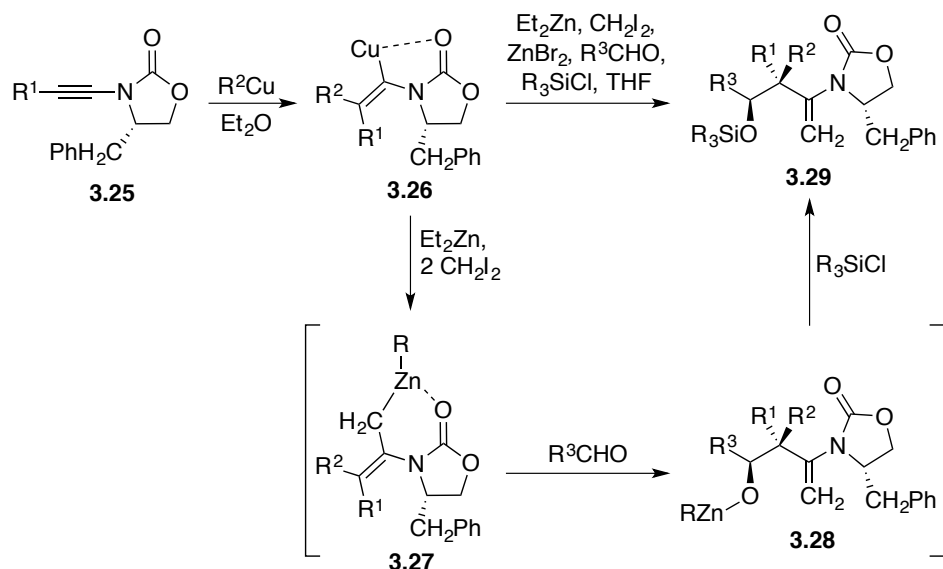
3.24.⁵² Les énolates de bore **3.23** formés suite à une transmétalement des énolates de lithium en présence de Cy_2BBr peuvent en effet réagir avec des aldéhydes afin de générer majoritairement les produits d'aldolisation *syn* (**3.24**) comportant un centre quaternaire carboné.

Schéma 16. Aldolisation à partir d'énolates d'amides α,α -disubstitués



Les méthodes d'aldolisation présentées emploient des réactions qui permettent la formation des différents liens carbone-carbone une étape à la fois afin de synthétiser les substrats parfois complexes qui sont nécessaires à la réaction d'aldolisation. Il est donc évident que le développement de nouvelles approches permettant la formation de plusieurs liens carbone-carbone en une seule étape permettrait d'obtenir des synthèses de centres quaternaires carbonés plus efficaces.^{41c} Au cours des dernières années, Marek *et al.*⁵³ ont développé une méthode stéréosélective permettant de former des composés comportant un centre quaternaire carboné adjacent à un centre stéréogénique en passant par la formation de trois liens carbone-carbone en une seule opération (Schéma 17). L'ynamide **3.25** est d'abord carbom  tall   de façon régiosélective en présence d'organocuprate afin de former l'intermédiaire **3.26** qui subit ensuite une homologation par l'organozincique $\text{Zn}(\text{CH}_2\text{I})_2$ pour ainsi générer le composé **3.27**. Ce dernier réagit avec un aldéhyde par une réaction d'allylation afin d'obtenir stéréosélectivement le produit **3.29** suite à la protection de l'alcool formé.

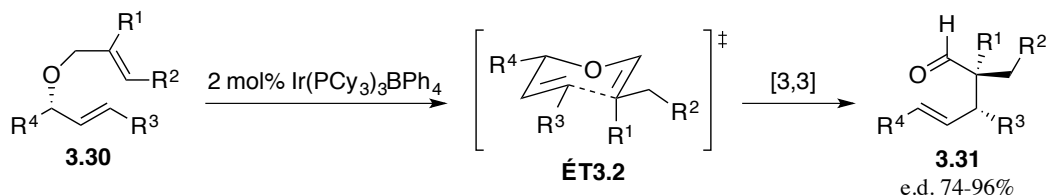
Schéma 17. Synthèse *single-pot* de centre quaternaire carboné proposée par Marek *et al.*⁵³



3.2.4. Réarrangements sigmatropiques [3,3]

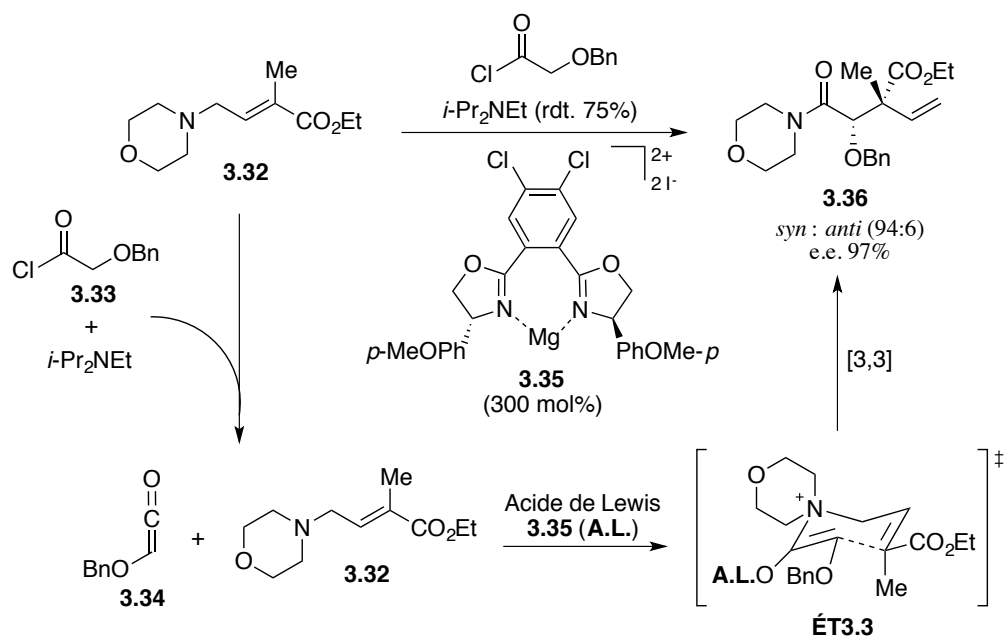
Parmi les méthodes les plus connues afin d'avoir accès à des centres quaternaires carbonés à partir de substrats complexes, il y a les réarrangements sigmatropiques [3,3].^{41c,54} Au cours de la dernière décennie, Nelson *et al.*⁵⁵ se sont inspirés des réarrangements de Ireland-Claisen, qui sont très utilisés comme variante des réarrangements sigmatropiques [3,3] pour introduire des centres quaternaires carbonés encombrés, dans le but de développer une façon de synthétiser stéréosélectivement ces centres chiraux par un réarrangement asymétrique (Schéma 18). Leur méthode implique d'abord l'isomérisation chimio- et stéréosélective de l'éther allylique **3.30** en présence d'un catalyseur d'iridium afin d'obtenir l'intermédiaire **ÉT3.2** sous forme d'un seul isomère. Celui-ci subit un réarrangement sigmatropique [3,3] *in situ* pour mener à la formation de l'aldéhyde **3.31** avec de bonnes sélectivités.

Schéma 18. Réarrangement asymétrique de type isomérisation-Claisen



Toujours dans l'optique de développer des réactions énantiosélectives permettant d'introduire des centres quaternaires carbonés sur des motifs acycliques, le groupe de MacMillan a conçu une réaction impliquant un réarrangement asymétrique de type acyle-Claisen qui donne accès à des esters β -hydroxy- α,α -disubstitués (Schéma 19).⁵⁶ Le chlorure d'acyle 3.33 réagit avec la *N,N*-diisopropyléthylamine afin de former le composé 3.34. Celui-ci, une fois activé par l'acide de Lewis chiral 3.35, réagit avec la *N*-allylmorpholine 3.32 pour générer l'état de transition ÉT3.3 qui subit un réarrangement de Claisen stéréosélectif permettant d'obtenir le produit 3.36 avec une sélectivité élevée, celle-ci étant dirigée par la chiralité de l'acide de Lewis présent.

Schéma 19. Réarrangement énantiosélectif d'acyle-Claisen



En résumé, les méthodes présentées aux sections 3.2.1 à 3.2.4 permettent toutes de générer stéréosélectivement des centres quaternaires carbonés sur des substrats acycliques qui peuvent ensuite subir différentes modifications afin d'être cyclisés pour former des lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées. Il y a très peu de stratégies efficaces connues qui peuvent être appliquées à la formation de centres quaternaires carbonés directement sur des lactones analogues à celles discutées dans ce mémoire. Par conséquent, la stratégie utilisant la chimie radicalaire qui a été développée par notre laboratoire est innovatrice, puisque la formation du centre quaternaire se fait directement sur une lactone fonctionnalisée par un transfert intramoléculaire stéréosélectif d'un groupement vinyle.

3.2.5. Application de la chimie radicalaire

Depuis de nombreuses années, plusieurs méthodes ont été développées et étudiées afin de synthétiser des centres quaternaires carbonés sur des substrats majoritairement acycliques, telles que présentées aux sections précédentes.⁴¹ Nonobstant leur utilité pour la formation stéréosélective de ce type de centres stéréogènes, certaines de ces méthodes sont contraignantes par rapport aux motifs précis que doivent posséder les précurseurs de celles-ci, mais également puisqu'elles permettent d'accéder stéréosélectivement à seulement une des deux configurations du centre quaternaire dans la majorité des cas.

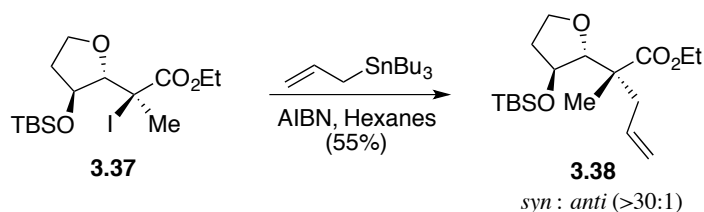
Au fil des années, en prenant en compte les différentes limitations énumérées ci-haut et dans l'optique de développer des nouvelles stratégies permettant l'accès à des composés fonctionnalisables et possédant plusieurs centres chiraux, notre laboratoire s'est intéressé à

l'étude de la chimie radicalaire et à son application potentielle pour la formation stéréosélective de centres quaternaires carbonés.⁵⁷

3.2.5.1. Premiers exemples rapportés

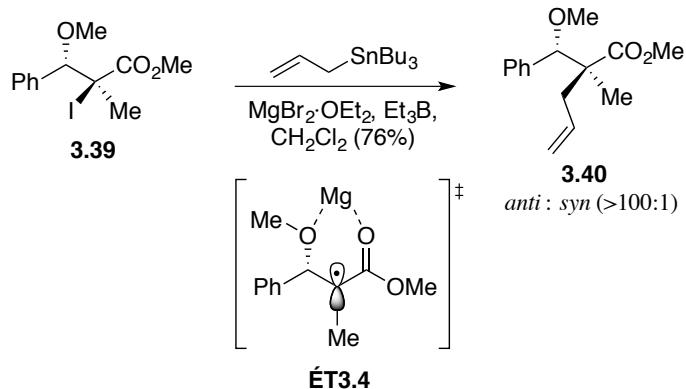
En 1990, le groupe du professeur Guindon a été parmi les premiers à rapporté la formation diastéréosélective de centres tertiaires sur des composés acycliques par réduction radicalaire impliquant un transfert d'hydrogène.⁵⁸ Peu de temps après, notre laboratoire a appliqué avec succès cette méthodologie impliquant des radicaux acycliques à la formation de liens carbone-carbone (Schéma 20).⁵⁹ En effet, la réaction de l'iode tertiaire **3.37** avec l'allyltributylstannane en présence d'AIBN en tant qu'initiateur de la réaction radicalaire permet de générer diastéréosélectivement le produit d'allylation *syn* **3.38**. Par conséquent, il a donc été possible de former un centre quaternaire carboné en utilisant la chimie des radicaux libres.

Schéma 20. Premier transfert radicalaire d'un allyle rapporté par notre laboratoire⁵⁹



Suite à ces résultats, notre groupe a également rapporté une façon d'obtenir le produit d'allylation *anti*, et ce grâce à l'utilisation d'acides de Lewis (Schéma 21).⁶⁰ Dans ce cas-ci, des acides de Lewis de magnésium ont été utilisés afin de permettre la formation du chélate **ÉT3.4** qui contrôle la face par laquelle l'allylation se fait avec le radical formé en position α . Le produit *anti* **3.40** est ainsi généré avec une excellente sélectivité en présence de l'acide de Lewis bidentate $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$.

Schéma 21. Alkylation radicalaire en présence d'un acide de Lewis bidentate

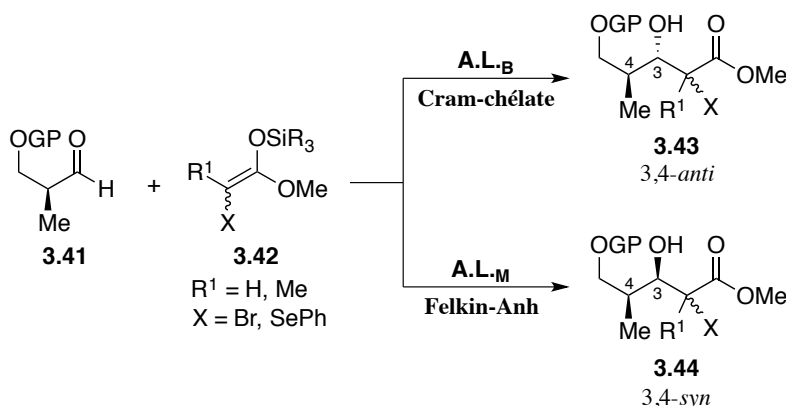


Avec ces outils en mains, le groupe du professeur Guindon s'est intéressé au développement d'une stratégie permettant de synthétiser stéréosélectivement les précurseurs des alkylations radicalaires, pour ensuite faire réagir ceux-ci en présence de différents acides de Lewis afin d'obtenir sélectivement les configurations *syn* et *anti* lors de l'alkylation radicalaire à partir d'un même précurseur.

3.2.5.2. Méthode générale impliquant une aldolisation de Mukaiyama suivie d'une alkylation radicalaire

Les différents travaux précédents publiés par notre laboratoire ont permis de concevoir une nouvelle méthodologie employant une aldolisation de Mukaiyama stéréosélective suivie d'une alkylation radicalaire diastéréosélective permettant ainsi de former les deux configurations des centres quaternaires carbonés.⁶¹ Les précurseurs (**3.43** et **3.44**) pour la réaction radicalaire sont formés à partir d'une réaction d'aldolisation de Mukaiyama entre l'aldéhyde **3.41** et l'énolate tétrasubstitué **3.42** (Schéma 22). Selon l'acide de Lewis utilisé, il est possible de générer sélectivement les produits d'aldolisation 3,4-*anti* (**3.43**) ou 3,4-*syn* (**3.44**) (cette observation sera expliquée en détail à la section 3.3.2).⁶¹

Schéma 22. Synthèse des précurseurs acycliques pour l'allylation radicalaire⁶¹

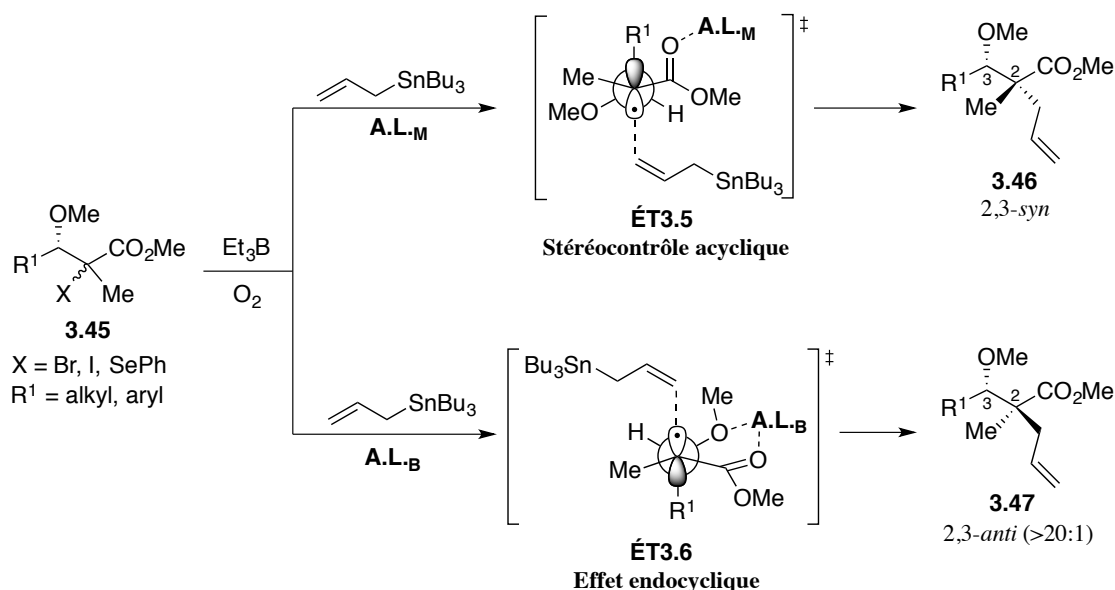


Les produits d'aldolisation (**3.43** et **3.44**) obtenus peuvent ensuite être soumis à l'allylation radicalaire afin de former des centres quaternaires carbonés dont la stéréochimie peut être contrôlée par les conditions réactionnelles (Schéma 23). En effet, en présence de triéthylborane (Et_3B) comme initiateur de la réaction radicalaire et d'un acide de Lewis bidentate (A.L._B), le précurseur acyclique **3.45** issu de l'aldolisation de Mukaiyama peut réagir avec l'allyltributylstannane en passant par la formation du chélate à six membres **ÉT3.6**.⁶¹ Celui-ci est formé grâce à la chélation entre l'acide de Lewis, le carbonyle de l'ester et l'oxygène en position β du substrat **3.45**. Ce complexe **ÉT3.6** renfermant le radical formé, aussi appelé *effet endocyclique*, est à l'origine des diastéréosélectivités élevées qui sont observées lors de l'allylation menant à la formation du produit 2,3-*anti* **3.47**. Il a été démontré par notre laboratoire que l'acide de Lewis bidentate assure également une réactivité élevée lors de l'allylation.^{60b,62}

Comme discuté précédemment, il est également possible de générer le produit d'allylation 2,3-*syn*.⁵⁹ En effet, il a été rapporté qu'un état de transition impliquant un *stéréocontrôle acyclique* (**ÉT3.5**) permet d'expliquer la formation diastéréosélective du produit

d'allylation 2,3-*syn* **3.46** à partir du substrat **3.45** en présence de Et₃B et d'allyltributylstannane (Schéma 23).⁶¹ La minimisation de la tension allylique 1,3⁶³ et des interactions dipôle-dipôle,^{58,64} ainsi qu'une stabilisation par hyperconjugaison⁶⁵ seraient à l'origine de l'état de transition **ÉT3.5** proposé.

Schéma 23. Allylations radicalaires intermoléculaires diastéréosélectives

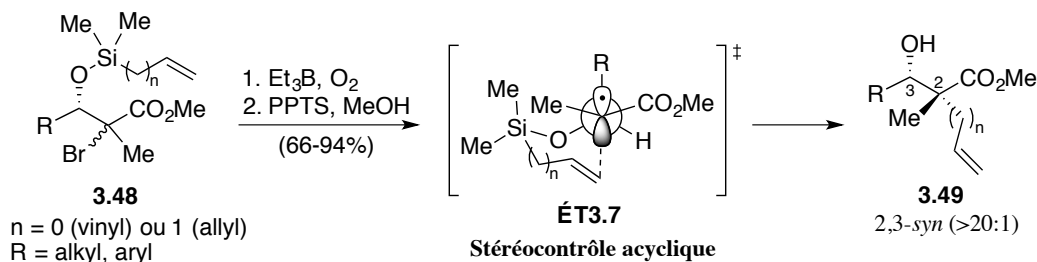


Des études menées par Benoit Cardinal-David⁶⁶ ont suggéré qu'un acide de Lewis monodentate (A.L.-M) doit être employé lors de l'allylation radicalaire menant aux produits 2,3-*syn* afin d'activer l'ester, puisque des acides de Lewis bidentates ne peuvent pas être utilisés, ceux-ci donnant plutôt accès aux produits 2,3-*anti*. Ces mêmes études ont également souligné qu'afin d'accéder sélectivement aux produits *syn*, le β -hydroxyle sur le précurseur **3.45** doit être protégé afin d'éviter une possible chélation entre son hydrogène et le carbonyle de l'ester, ce qui mènerait à un contrôle par *effet endocyclique* non désiré. Cependant, les différentes conditions réactionnelles testées par Benoit Cardinal-David ont mené à la formation du produit

d'allylation radicalaire 2,3-*syn* avec des diastéréosélectivités plutôt faibles.^{66a} Par conséquent, afin de pallier à la nécessité de protéger le β -hydroxyle temporairement, d'utiliser des acides de Lewis forts et d'employer un réactif toxique à base d'étain pour l'allylation radicalaire intermoléculaire, il était nécessaire de trouver un autre moyen original et pratique pour synthétiser ces motifs 2,3-*syn*.⁶⁷

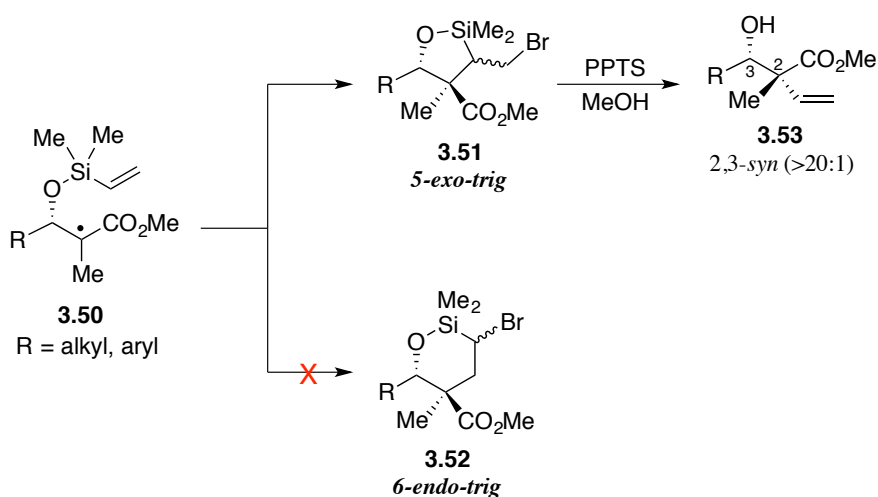
Suite à une étude plus approfondie de l'état de transition impliquant un *stéréocontrôle acyclique*,⁶⁷ une nouvelle stratégie radicalaire a été développée par notre laboratoire en s'inspirant de différents travaux sur les ponts au silicium.⁶⁸ En effet, plusieurs groupes de recherche ont démontré que des éthers silylés portant un groupement vinyle ou allyle (*radical trap*) peuvent réagir intramoléculairement avec des radicaux secondaires cycliques en passant par un *pontage au silicium*.⁶⁹ Notre méthode originale applique ce type de transfert intramoléculaire à la formation de centres quaternaires carbonés permettant d'obtenir la stéréochimie 2,3-*syn* (**3.49**) avec des sélectivités élevées (Schéma 24).⁶⁷ Pour ce faire, le transfert intramoléculaire doit se faire vers un radical libre tertiaire, et ce de façon diastéréosélective. La minimisation des interactions dipôle-dipôle^{58,64} et de la tension allylique 1,3 associée à la délocalisation du radical dans l'ester⁶³ sont responsables de l'état de transition de plus basse énergie **ÉT3.7** qui est à l'origine de la stéréochimie 2,3-*syn* (**3.49**) obtenue à partir des éthers silylés **3.48**. De plus, l'alignement de l'orbitale HOMO du lien C-R avec l'orbitale SOMO du radical permet une stabilisation par hyperconjugaison entre ces orbitales,⁶⁵ ce qui est en accord avec l'état de transition **ÉT3.7** proposé.

Schéma 24. Transfert radicalaire intramoléculaire menant aux produits 2,3-*syn*⁶⁷



Cette méthodologie développée par notre laboratoire est appliquée afin de synthétiser les centres quaternaires carbonés présents sur les lactones β -hydroxy- α,α -disubstituées qui seront impliquées lors des synthèses discutées dans cet ouvrage (voir Schéma 11). Par conséquent, il est important de souligner que suite à la formation du radical (**3.50**) en présence de triéthylborane (Et_3B), la cyclisation intramoléculaire de type *5-exo-trig* doit être favorisée par rapport à la cyclisation *6-endo-trig* afin de mener à l'intermédiaire cyclique **3.51** nécessaire à l'obtention des produits de vinylation 2,3-*syn* **3.53** désirés (Schéma 25).⁶⁷

Schéma 25. Cyclisation radicalaire intramoléculaire : régiosélectivité

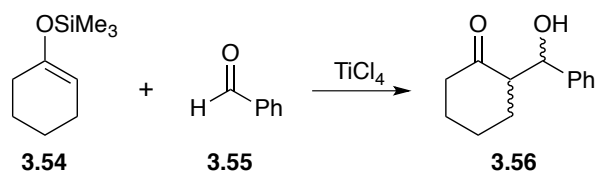


Dans ce cas-ci, les règles de Baldwin-Beckwith⁷⁰ ne peuvent pas être appliquées afin de déterminer la cyclisation la plus favorable, soit celle de plus basse énergie. En effet, la présence de silicium dans les cycles formés mène à une déviation des règles de Baldwin,⁷¹ puisque la longueur des liens O-Si et C-Si est plus importante que celle des liens O-C et C-C.⁷² Ainsi, des études expérimentales et RMN menées par Martin Duplessis⁷³ ont été nécessaires afin de démontrer que le produit de cyclisation *5-exo-trig* **3.51** est formé régiosélectivement.

3.3. Aldolisation de Mukaiyama

La réaction entre des éthers d'énol silylés (**3.54**) et des composés carbonylés, tels que des cétones ou des aldéhydes (**3.55**), en présence d'acides de Lewis qui permet d'obtenir des produits d'aldolisation (**3.56**) fut rapportée pour la première fois par Mukaiyama *et al.* en 1973 (Schéma 26).^{74,75} Ce type de réactions d'aldolisation croisées qui porte le nom de son inventeur est désormais devenu un outil incontournable afin de synthétiser stéréosélectivement des molécules complexes à partir de deux composés carbonylés. Un des avantages de l'aldolisation de Mukaiyama est que les éthers d'énol silylés utilisés dans cette réaction peuvent être préparés régiosélectivement à partir d'une grande variété de cétones, permettant ainsi de résoudre les problèmes de régiochimie observés chez d'autres types d'aldolisation.⁷⁵

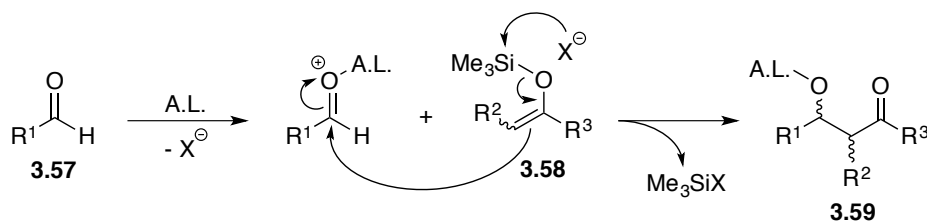
Schéma 26. Première réaction d'aldolisation de Mukaiyama rapportée en 1973⁷⁴



3.3.1. Mécanismes

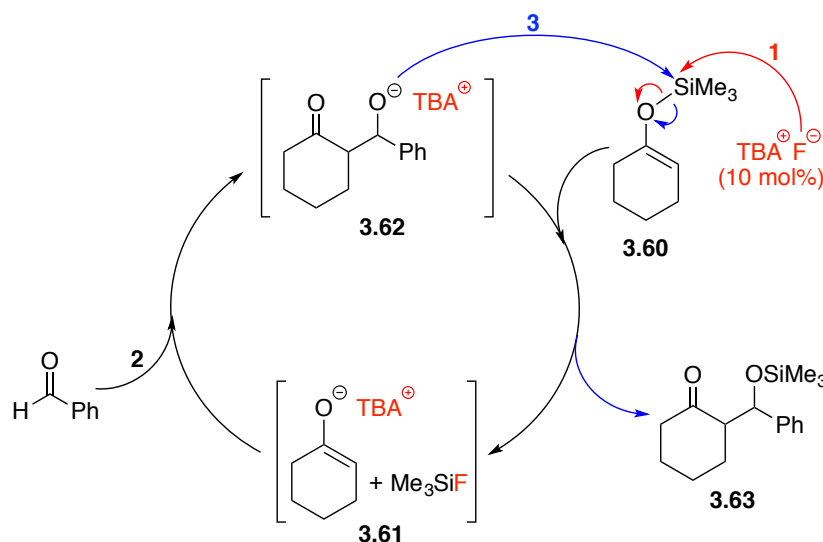
Le mécanisme qui est généralement accepté de nos jours pour l'aldolisation de Mukaiyama en présence d'acides de Lewis durs (Ti, Sn, Al, B, Mg, etc.) est illustré au Schéma 27. L'aldéhyde (**3.57**) est d'abord activé par l'acide de Lewis (A.L.), pour ensuite subir une attaque nucléophile par l'énolate silylé (**3.58**) afin de former un lien C-C intermoléculaire et ainsi obtenir le produit d'aldolisation **3.59**. Les différentes sélectivités observées lors de la formation des deux centres stéréogéniques sont dues aux interactions stériques et stéréoélectroniques.^{74,76}

Schéma 27. Mécanisme général de la réaction de Mukaiyama^{74,76}



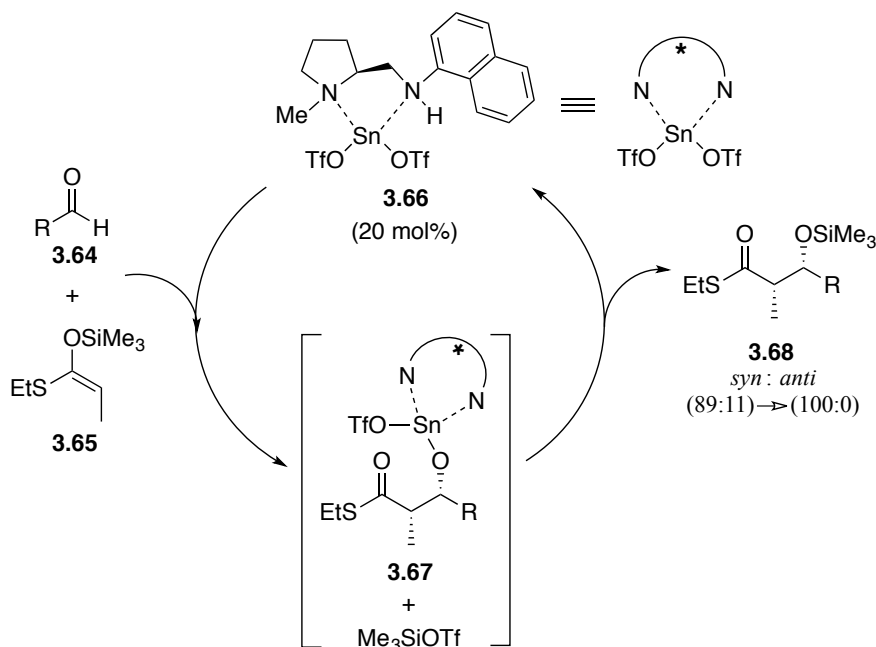
En 1977, Noyori et Kuwajima ont démontré qu'il est possible de faire une réaction d'aldolisation entre un éther d'énol silylé et un aldéhyde en présence d'une quantité catalytique de fluorure sans l'ajout d'un acide de Lewis dur (Schéma 28).⁷⁷ En effet, l'énolate anionique **3.61** est initialement généré suite à l'attaque d'un fluorure sur l'éther d'énol silylé **3.60**, pour ensuite réagir avec un aldéhyde et former le produit d'aldolisation anionique **3.62**. Celui-ci réagit rapidement avec l'éther d'énol silylé **3.60** afin de régénérer l'énolate anionique **3.61** et former le produit d'aldolisation silylé **3.63**.

Schéma 28. Mécanisme de l'aldolisation catalysée par un fluorure^{75,77}



Au début des années 90, suite aux travaux d'Evans,⁷⁸ Masamune,⁷⁹ Paterson,⁸⁰ Corey⁸¹ et Reetz⁸² sur les réactions d'aldolisation asymétriques,⁷⁶ Mukaiyama propose une version catalytique de sa réaction d'aldolisation énantiosélective avec l'utilisation d'acides de Lewis chiraux.⁸³ Le mécanisme d'un exemple de cette réaction catalytique est illustré au Schéma 29. L'aldéhyde (**3.64**) est initialement activé par l'acide de Lewis chiral **3.66** pour ensuite subir une attaque nucléophile asymétrique par l'éther d'énol silylé **3.65** et former le produit d'aldolisation **3.67** ainsi que le Me_3SiOTf . L'étape clé de ce cycle catalytique est la transmétalement intermoléculaire rapide impliquant la substitution de l'atome d'étain(II) par le silicium du TMSOTf afin de générer majoritairement le produit d'aldolisation silylé *syn* **3.68** et de régénérer l'acide de Lewis chiral **3.66**. Dans les années qui ont suivi, l'étude des réactions de Mukaiyama asymétriques catalytiques était un domaine très actif et une grande variété d'acides de Lewis chiraux donnant d'excellentes énantiosélectivités ont été rapportés par plusieurs groupes de recherche,⁷⁶ notamment ceux de Keck,⁸⁴ Carreira,⁸⁵ Yamamoto,⁸⁶ Corey,⁸⁷ Evans,⁸⁸ Chen⁸⁹ et Shibasaki.⁹⁰

Schéma 29. Mécanisme de la réaction de Mukaiyama énantiosélective catalytique⁸³

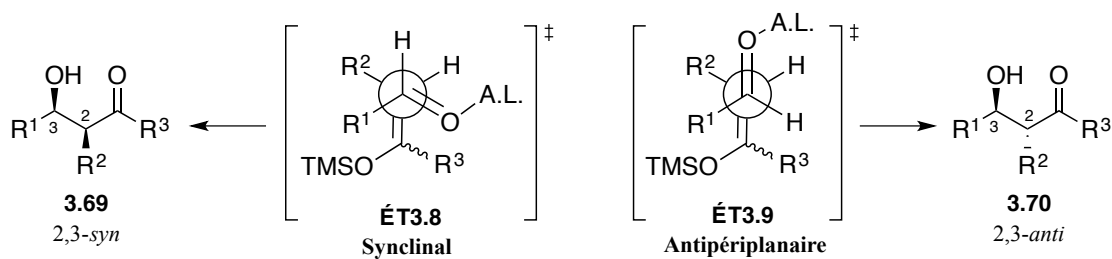


Il est important de noter que dans les réactions d'aldolisation de Mukaiyama où des acides de Lewis durs sont impliqués, aucune transmétallation n'est observée avec l'énolate silylé avant l'attaque nucléophile de celui-ci sur le carbonyle. Par conséquent, aucun énolate de métaux durs n'est impliqué, ce qui permet d'exclure les états de transition cycliques de type Zimmerman-Traxler⁹¹ lors des réactions de Mukaiyama.⁷⁶ Des états de transition acycliques ouverts sont plutôt invoqués afin d'appuyer les diastéréosélectivités observées. Toutefois, Carreira a démontré qu'une transmétallation de l'énolate silylé peut être induite par des complexes de métaux mous (Ni(II), Cu(II) ou Ag(I)) fluorés et ainsi générer un énolate de métal mou, mais ces cas sont plutôt rares.^{85a}

3.3.2. États de transition impliqués et sélectivités

Les études préliminaires faites par Heathcock⁹² et Denmark⁹³ suggèrent que les aldolisations de Mukaiyama en présence d'acide de Lewis passent par des états de transition ouverts. L'aldéhyde activé par l'acide de Lewis subit une attaque nucléophile par l'éther d'énol silylé suivant une trajectoire *antipériplanaire* ou *synclinal* afin d'obtenir les produits d'aldolisation *syn* ou *anti*. Les travaux plus récents de Wiest *et al.*⁹⁴ ont permis de déterminer les deux états de transition ouverts de plus basses énergies qui permettraient de rationaliser la majorité des diastéréosélectivités obtenues lors des réactions de Mukaiyama en présence d'acide de Lewis (Schéma 30). En effet, il est stipulé que l'état de transition **ÉT3.8** de type *synclinal* permettrait d'avoir accès aux produits d'aldolisation *syn* (**3.69**), tandis que l'état de transition **ÉT3.9** *antipériplanaire* mènerait plutôt aux produits *anti* (**3.70**), et ce peu importe la stéréochimie de l'éther d'énol silylé.⁹⁴ Les interactions stériques et stéréoélectroniques engendrées par les groupements présents sur l'aldéhyde, l'énolate et l'acide de Lewis jouent donc un rôle primordial en lien avec les sélectivités obtenues.

Schéma 30. États de transition ouverts les plus stables selon les études de Wiest *et al.*⁹⁴



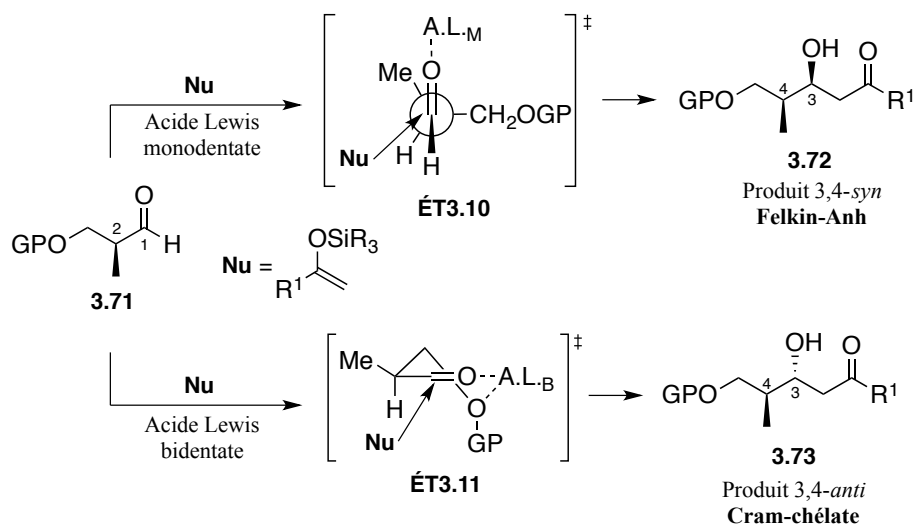
3.3.2.1. Addition d'énolates silylés sur des aldéhydes α -chiraux

Les sélectivités lors des réactions d'aldolisation de Mukaiyama asymétriques peuvent être induites en utilisant un contrôle par le réactif, soit avec des acides de Lewis^{87,95} ou

Brønsted⁹⁶ chiraux ou avec des énolates chiraux⁹⁷, mais elles peuvent également utiliser un contrôle par le substrat (composés carbonylés chiraux).⁷⁶ Dans cet ouvrage, seule la méthode de contrôle par le substrat sera discutée, puisque notre laboratoire a un précédent dans l'induction asymétrique 1,2 afin de générer des centres stéréogéniques et c'est ce type de contrôle qui est exploité dans la synthèse des analogues de nucléosides présentés dans ce mémoire.

Plusieurs modèles ont été proposés afin de décrire les états de transition lors d'addition d'énolates silylés sur des aldéhydes possédant un centre chiral en position α selon le type d'acides de Lewis achiraux utilisé (contrôle par le substrat). Le modèle généralement accepté lors de l'utilisation d'acide de Lewis monodentate est celui décrit par les travaux de Felkin⁹⁸ et Anh-Einstein⁹⁹. Afin de déterminer la sélectivité obtenue avec le modèle de Felkin-Anh, une projection de Newman¹⁰⁰ doit être effectuée en plaçant les différents groupements de façon à minimiser les interactions stériques ou stéréoélectroniques déstabilisantes (Schéma 31). En effet, aucune interaction éclipsée n'est observée dans l'état de transition **ÉT3.10** et le substituant le plus encombrant en position α de l'aldéhyde **3.71** est placé perpendiculairement au carbonyle qui est activé par l'acide de Lewis. En sachant que l'attaque nucléophile se fait par la trajectoire la moins encombrée et avec l'angle de Bürgi-Dunitz¹⁰¹ par rapport au carbonyle, les autres groupements en position α sont positionnés afin d'obtenir l'état de transition de Felkin-Anh **ÉT3.10** le plus stable pour l'addition du nucléophile (**Nu**). Le produit 3,4-*syn* **3.72** est ainsi obtenu lorsqu'un acide de Lewis monodentate (A.L.M) est utilisé.

Schéma 31. États de transition proposés pour l'induction asymétrique 1,2



Il est également possible d'obtenir le produit 3,4-*anti* **3.73** en utilisant un acide de Lewis bidentate (A.L._B) qui peut former un chélate avec l'oxygène du carbonyle et celui présent en position β de l'aldéhyde **3.71** (Schéma 31). Le complexe formé (**ÉT3.11**) le plus stable est défini selon les règles du modèle de Cram-chélate en rapprochant le plus possible les deux groupements chélatant.¹⁰² Des études ont proposé que l'état de transition le plus stable (**ÉT3.11**) adopte une conformation demi-chaise avec le substituant méthyle en position équatoriale afin que le nucléophile (**Nu**) puisse attaquer par la face la moins encombrée avec une trajectoire de Bürgi-Dunitz.¹⁰³

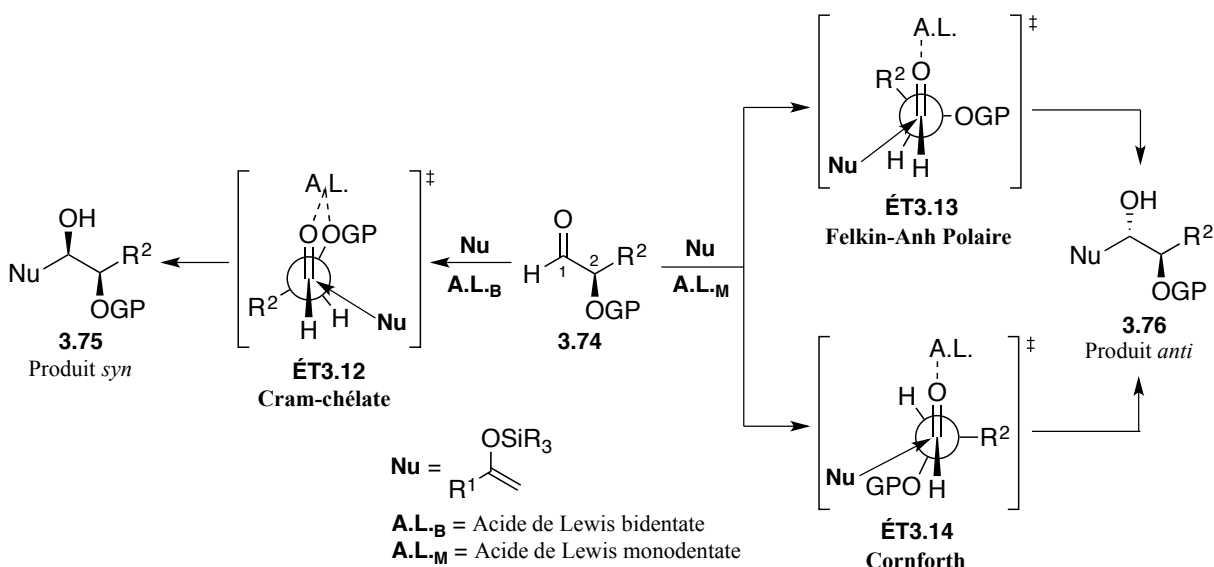
3.3.2.2. Addition d'énolates silylés sur des aldéhydes chiraux α -hydroxylés

L'ajout d'un groupement hydroxylé en position α de l'aldéhyde (**3.74**) provoque un changement notable au niveau des sélectivités observées pour les réactions de Mukaiyama avec une induction asymétrique 1,2 (Schéma 32).¹⁰⁴ En effet, l'utilisation d'un acide de Lewis

bidentate mène plutôt au produit *syn* **3.75** en passant par l'état de transition **ÉT3.12** du type Cram-chélate où le carbonyle et l'hydroxyle protégé (OGP) en position α sont positionnés afin de permettre une chélation avec le métal de l'acide de Lewis. Le nucléophile (**Nu**) peut ensuite s'ajouter sur le chélate formé par la trajectoire la moins encombrée.^{102a,105}

Lorsqu'un acide de Lewis monodentate est utilisé, deux modèles d'états de transition menant au produit *anti* sont généralement proposés : le Felkin-Anh polaire et celui de Cornforth (Schéma 32).¹⁰⁶ Le premier modèle, proposé par Felkin *et al.*^{99,107}, met de l'avant que l'état de transition le plus stable (**ÉT3.13**) est de type décalé où le groupement le plus électroattracteur en position α de l'aldéhyde (**3.74**), l'hydroxyle protégé dans ce cas-ci, est positionné de façon perpendiculaire au carbonyle. Le nucléophile (**Nu**) attaque donc par la trajectoire la moins encombrée se positionnant de façon antipériplanaire par rapport au groupement électroattracteur (OGP) afin de permettre une stabilisation en ayant une hyperconjugaison entre l'orbitale σ de la liaison C-Nu formée et l'orbitale σ^* du lien C-OGP, ainsi que les orbitales π et π^* du carbonyle.^{107b,108} Le deuxième modèle, proposé par Cornforth¹⁰⁹, s'appuie sur les effets électrostatiques afin de placer le groupement le plus électronégatif de façon quasi-antiparallèle par rapport au carbonyle, ce qui minimise l'interaction dipôle-dipôle. Les autres substituants en position α de l'aldéhyde (**3.74**) sont positionnés afin de minimiser les interactions stériques pour obtenir l'état de transition (**ÉT3.14**) de plus basse énergie.¹⁰⁹ L'application de ces deux modèles lors d'une réaction de Mukaiyama en présence d'un aldéhyde α -hydroxylé et d'un acide de Lewis monodentate mène sélectivement à la formation du produit *anti* **3.76**.

Schéma 32. États de transition proposés lors d'une addition sur un aldéhyde α -hydroxylé



3.4. Conclusion

Cette section a d'abord permis de souligner la multitude de stratégies employées dans la littérature afin de former des centres quaternaires carbonés, pour ensuite mettre l'accent sur les avantages que possède la méthode radicalaire conçue par notre laboratoire afin de synthétiser ces centres stéréogéniques fonctionnalisables. L'obtention du précurseur nécessaire à la formation du centre quaternaire par transfert radicalaire se fait à partir d'un substrat acyclique qui est obtenu par une aldolisation de Mukaiyama. Ainsi, une introduction en lien avec cette réaction ainsi que son utilisation importante dans le domaine des aldolisations asymétriques a permis de mettre en contexte l'application de la réaction de Mukaiyama dans notre voie de synthèse.

CHAPITRE 4. PREMIÈRE VOIE DE SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE NUCLÉOSIDES CARDIOPROTECTEURS

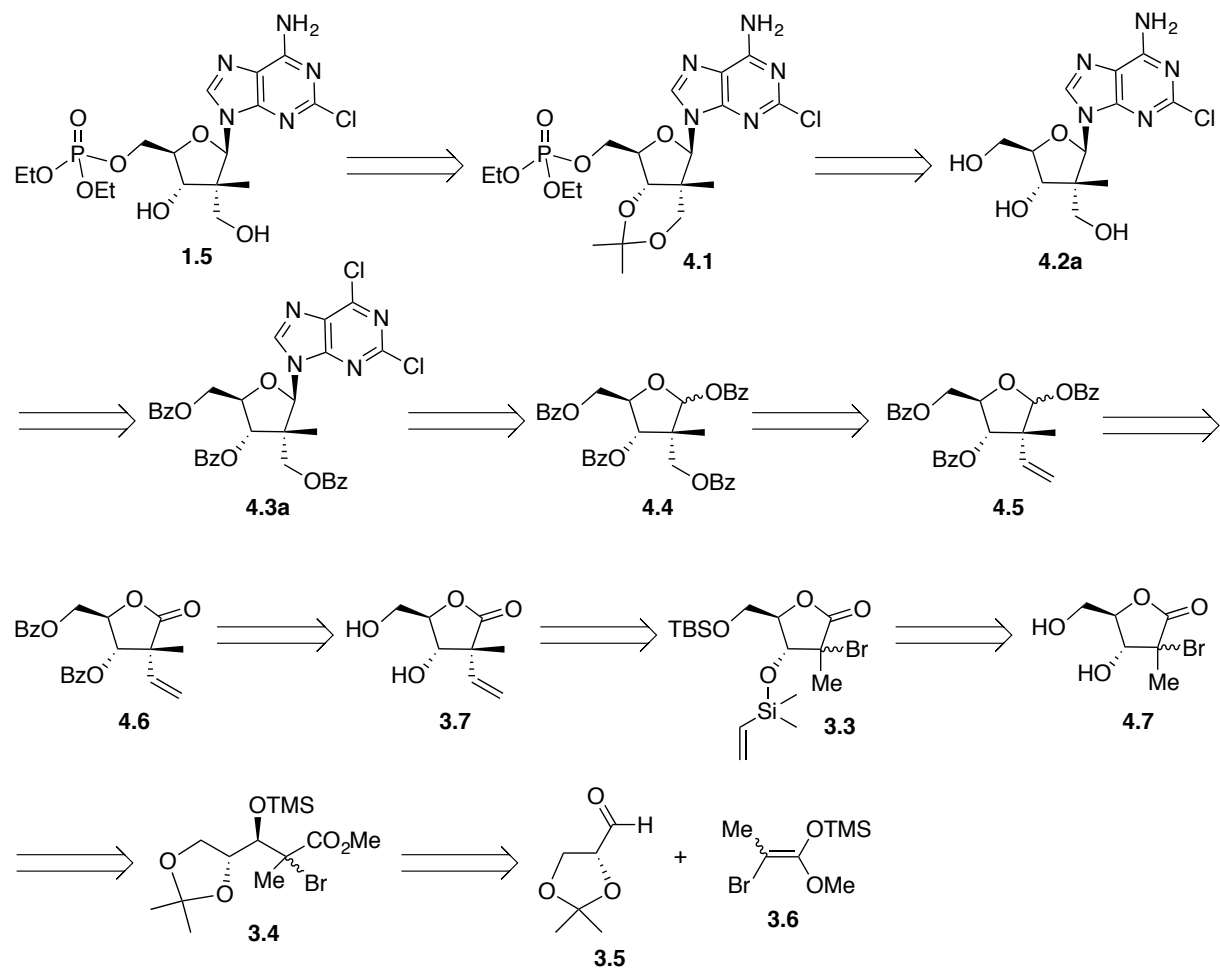
4.1. Introduction

La première voie de synthèse développée dans notre laboratoire permettant d'avoir accès à un analogue de nucléoside à portée cardioprotectrice a été conçue et explorée par Fabiola Becerril-Jiménez lors de son stage postdoctoral. À partir de cette voie prometteuse, plusieurs optimisations de différentes réactions ont été faites afin d'obtenir une voie de synthèse plus efficace qui permettrait ainsi d'obtenir une variété d'analogues.

4.2. Première voie de synthèse

La rétrosynthèse présentée au Schéma 33 montre les étapes réactionnelles principales afin de synthétiser le composé **1.5 (LCB-2122)** qui fut un des premiers analogues cardioprotecteurs obtenus pour ce projet. Cette synthèse utilise une approche convergente cyclique, puisque l'adénine modifiée est introduite par *N*-glycosylation sur le furanoside fonctionnalisé **4.4**. Celui-ci est obtenu suite à différentes modifications sur l'intermédiaire **3.7** qui est issu de la réaction de formation du centre quaternaire en position C-2'. Cette étape clé de la synthèse utilise un transfert intramoléculaire d'un groupement vinyle par voie radicalaire, une méthode efficace qui a été développée par notre laboratoire pour la création de centres quaternaires carbonés. La lactone **4.7** est obtenue suite à la cyclisation de l'intermédiaire acyclique **3.4** qui provient quant à lui d'une réaction d'aldolisation de Mukaiyama entre l'aldéhyde **3.5** et l'éther d'énol silylé **3.6**, ceux-ci étant obtenus rapidement à partir de produits commerciaux.

Schéma 33. Rétrosynthèse de la première voie de synthèse développée

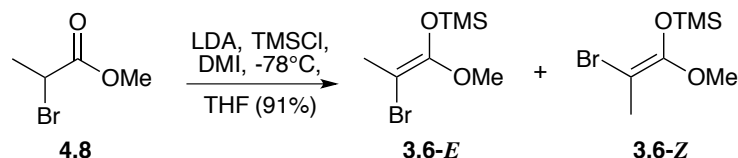


4.2.1. Formation de l'éther d'énol silylé

La première étape de cette synthèse est de former l'éther d'énol silylé qui sera par la suite utilisé lors de l'aldolisation de Mukaiyama (Schéma 34). À partir du méthyle 2-bromopropionate (**4.8**) que l'on met en présence d'une base forte, soit le lithium diisopropylamide (LDA), il est possible de former un mélange d'isomères *E* et *Z* de l'énolate silylé **3.6** en ajoutant du 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone (DMI) et du chlorure de triméthylsilyle (TMSCl) qui permettent d'obtenir majoritairement le produit *O*-silylé versus le produit *C*-silylé,

et ce, avec des rendements généralement élevés. Cette méthode avec l'ajout de DMI a été développée dans notre laboratoire et rapportée par Guillaume Tambutet¹¹⁰ afin de diminuer la quantité d'énolate C-silylé formé.

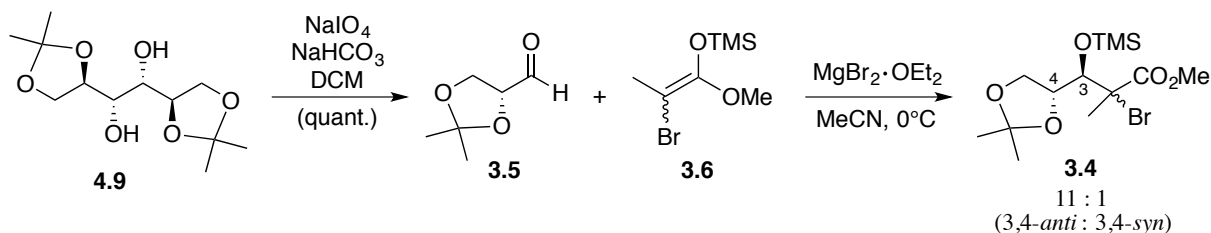
Schéma 34. Formation de l'énolate silylé



4.2.2. Aldolisation de Mukaiyama avec contrôle par le substrat

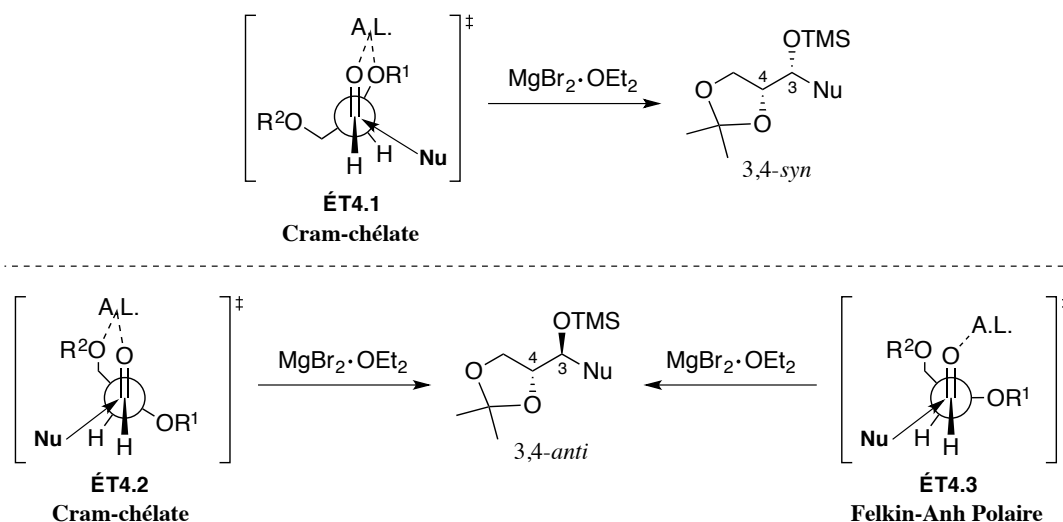
Une fois le mélange d'énolates silylés (**3.6**) formé, celui-ci peut réagir par une aldolisation de Mukaiyama avec l'aldéhyde **3.5** issu du di-isopropylidène-*D*-mannitol (**4.9**),¹¹¹ et ce, en utilisant les conditions réactionnelles optimisées par notre laboratoire afin d'obtenir la sélectivité 3,4-*anti* désirée (Schéma 35).¹¹⁰ Ces conditions suggèrent l'utilisation de l'acide de Lewis bidentate $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ en combinaison avec un contrôle par le substrat (voir les sections 3.3.2.1 et 3.3.2.2 sur l'aldolisation). Les produits d'aldolisation attendus devraient donc provenir majoritairement de l'état de transition de type Cram-chélate (ÉT4.1), et par conséquent, avoir une relation 3,4-*syn* (Schéma 36). Cependant, telle que désirée, c'est la sélectivité inverse 3,4-*anti* (**3.4**) qui est obtenue majoritairement lors de cette aldolisation en présence de $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$. Des études antérieures faites par différents groupes de recherche en lien avec des aldolisations entre l'aldéhyde **3.5** et différents énolates silylés montrent des inversions de sélectivité similaires en présence d'acides de Lewis bidentates.¹¹² Les ratios *syn:anti* obtenus pour cette réaction ont été déterminés par l'analyse RMN ^1H (nOe) du mélange de lactones obtenu après un traitement des produits d'aldolisation avec HCl (voir Annexe A).

Schéma 35. Formation de l'aldéhyde et aldolisation de Mukaiyama



Afin de rationaliser ces résultats surprenants, il est possible d'étudier les différents états de transition qui mènent aux produits *anti* (Schéma 36). Une première hypothèse est que l'encombrement stérique causé par le groupement isopropylidène empêche la chélation de l'oxygène en position α de l'aldéhyde **3.5** avec le $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$, ce qui mènerait donc aux produits 3,4-*anti* de type Felkin-Anh polaire (ÉT4.3).¹¹⁰ Une autre hypothèse est qu'une chélation soit faite avec l'oxygène en position β de l'aldéhyde **3.5** afin d'obtenir une sélectivité 3,4-*anti* lors de l'aldolisation de Mukaiyama (ÉT4.2).

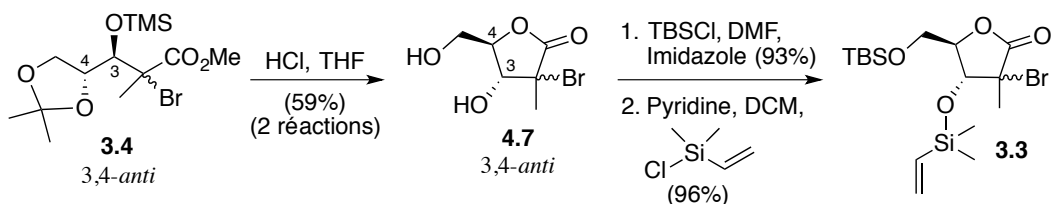
Schéma 36. États de transition menant aux produits *syn* et *anti* lors de l'aldolisation



4.2.3. Formation des furanosides par cyclisation et préparation du précurseur pour la réaction radicalaire

Le mélange de produits d'aldolisation 3,4-*anti* (**3.4**) est cyclisé en présence de condition fortement acide (Schéma 37). En effet, l'utilisation de HCl concentré (12 N) est nécessaire afin de cliver le groupement isopropylidène et permettre une cyclisation par transestérification intramoléculaire *in situ*. La formation de l'hétérocycle à 5 membres est favorisée dans ces conditions.¹¹³ De plus, le groupement protecteur silylé sur l'alcool en position C-3 du substrat acyclique (**3.4**) est également sensible aux conditions acides, ce qui permet d'obtenir le mélange de lactones 3,4-*anti* **4.7**. L'alcool primaire peut ensuite être sélectivement protégé par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyl (TBS), permettant ainsi d'installer un vinylsilane sur l'hydroxyle secondaire afin de former le précurseur **3.3** qui sera utilisé lors de la formation du centre quaternaire par voie radicalaire.

Schéma 37. Préparation du précurseur silylé pour la réaction radicalaire



4.2.4. Formation du centre quaternaire carboné

Avant d'en arriver à l'utilisation de la chimie radicalaire afin de former le centre quaternaire, différentes conditions d'alkylations ont été explorées par Fabiola Becerril-Jiménez (Tableau 1). À partir de la lactone **4.10**, il est possible de faire une première alkylation en position α afin d'obtenir les composés **4.11** (Condition A). Les rendements sont plutôt faibles lorsqu'un groupement CH₂OH est ajouté (Entrées 1 et 2), mais l'addition d'un méthyle se fait

avec un rendement élevé de 90% (Entrées 3 et 4). Pour ce qui est de la deuxième alkylation (Condition **B**) qui permet de former sélectivement la lactone β -hydroxy- α,α -disubstituée **4.12**, les différentes conditions utilisées ne permettent pas d'obtenir le produit désiré avec des rendements acceptables. Par conséquent, cette méthode d'alkylations successives afin de former le centre quaternaire fut rapidement écartée en raison des rendements globaux relativement faibles.

Tableau 1. Formation du centre quaternaire carboné par alkylations successives

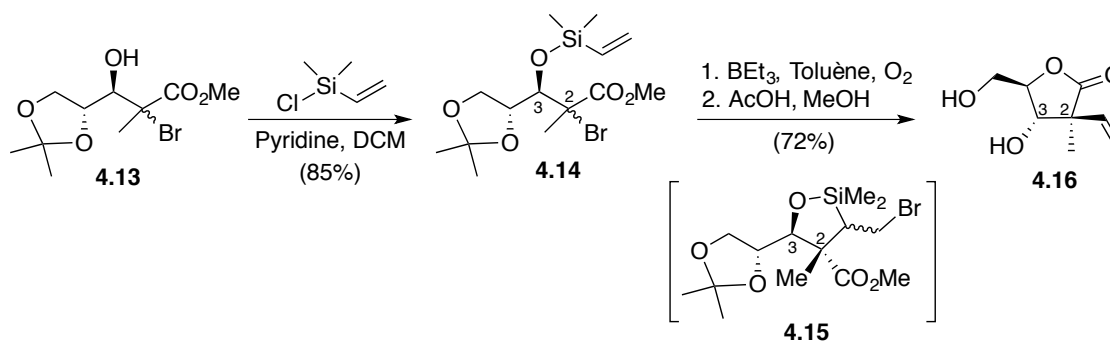
Entrée	R	Condition A	Rend. ^a (%)	Condition B	Rend. ^a (%)
1	CH ₂ OH	1 <i>H</i> -Benzotriazole-1-méthanol, -45 °C	36	DMI, MeI, -30 °C	27
2	CH ₂ OH	CH ₂ O, -40 °C	52	DMI, MeI, -30 °C	27
3	Me	DMI, MeI, -40 °C	90	DMI, 1 <i>H</i> -Benzotriazole-1-méthanol, -40 °C	– ^b
4	Me	DMI, MeI, -40 °C	90	CH ₂ O, -40 °C	39

^a Rendement des produits isolés. ^b Produit de départ observé.

Suite aux travaux rapportés par notre laboratoire en lien avec la formation stéréosélective de centres quaternaires carbonés en utilisant la chimie des radicaux libres, nous avons décidé d'opter pour cette méthodologie prometteuse (Schéma 38). La protection du substrat **4.13** permet d'obtenir l'éther silylé **4.14** portant un groupement vinyle. En présence de triéthylborane (BET₃), ce composé acyclique (**4.14**) peut subir un transfert radicalaire intramoléculaire du groupement vinyle afin d'obtenir le produit de configuration 2,3-*syn*. Suite à la formation de

l'intermédiaire cyclique **4.15**, l'ajout d'acide acétique permet de briser le pont au silicium formé et de libérer le groupement vinyle, mais également de cliver le groupement isopropylidène afin de permettre une cyclisation par transestérification intramoléculaire. La lactone β -hydroxy- α,α -disubstituée **4.16** est ainsi obtenue. Par contre, cette méthode employée au Schéma 38 ne permet pas d'obtenir la stéréochimie désirée au niveau du centre quaternaire en C-2.

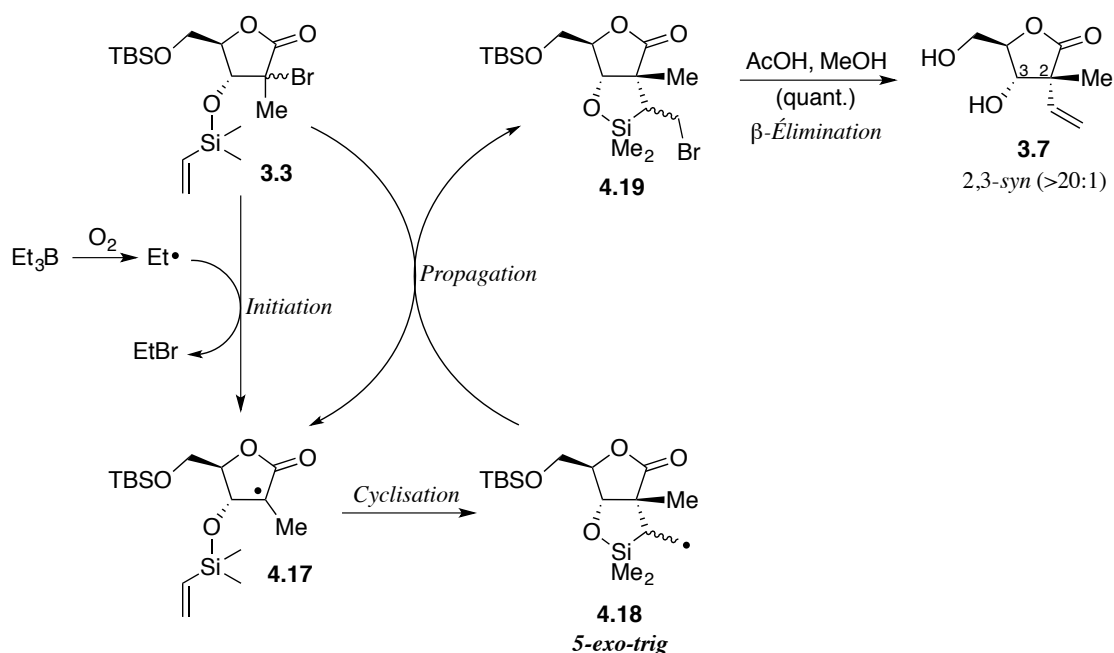
Schéma 38. Transfert radicalaire intramoléculaire suivi de la cyclisation *in situ*



Toutefois, l'application du transfert radicalaire intramoléculaire sur le substrat déjà cyclisé (**3.3**) nous permet de générer le diastéréoisomère désiré **3.7**. Le mécanisme général de cette réaction radicalaire à partir du précurseur cyclique **3.3** est présenté au Schéma 39. Tout d'abord, une étape d'initiation permet de former le radical Et^\bullet à partir de la réaction entre le triéthylborane (BEt_3) et l'oxygène. Ce radical peut ensuite réagir avec le précurseur **3.3** afin de former un radical en position α de la lactone (**4.17**). Ce dernier étant stabilisé par le carbonyle voisin va donc réagir avec le groupement vinyle riche en électrons par une cyclisation régiosélective de type *5-exo-trig* afin de former l'intermédiaire **4.18**. L'étape de propagation de la chaîne radicalaire peut ensuite se produire entre le radical **4.18** et le précurseur **3.3** afin de transférer un atome de brome en position β du silicium pour ainsi obtenir le composé **4.19** et reformer l'intermédiaire radicalaire **4.17**. Un traitement en condition acide permet de cliver le

pont au silicium et de libérer le groupement vinyne par une réaction de β -élimination. De plus, une déprotection du groupement silylé TBS se produit *in situ* lors de cette étape finale. Ainsi, le produit 2,3-*syn* (**3.7**) possédant la stéréochimie désirée au niveau du centre quaternaire carboné est formé avec une sélectivité élevée (>20:1) et un rendement quantitatif. La sélectivité obtenue est contrôlée par la rigidité de la lactone qui force la cyclisation radicalaire à se faire par une seule face possible selon la chiralité du groupement en position C-3 (transfert *syn*).

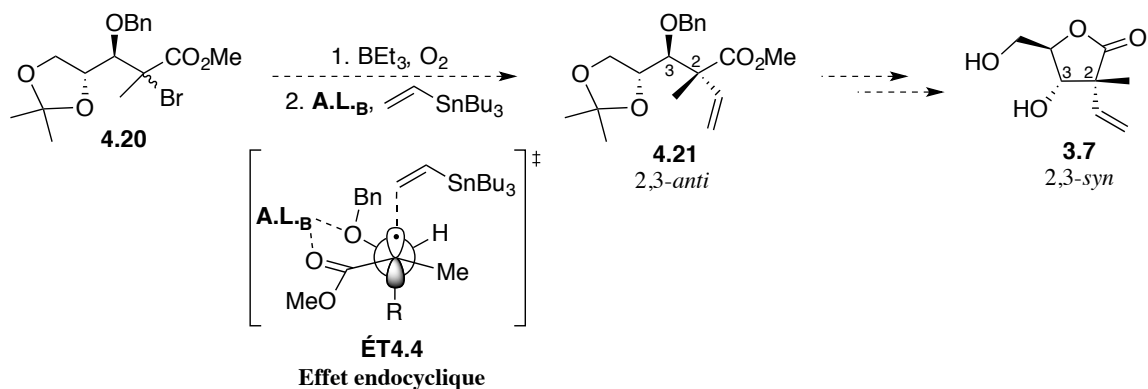
Schéma 39. Mécanisme du transfert radicalaire intramoléculaire du groupement vinyne



En se basant sur des travaux antérieurs effectués par notre laboratoire, il est important de souligner qu'il serait éventuellement possible d'avoir accès à la lactone β -hydroxy- α,α -disubstituée **3.7** à partir du précurseur acyclique **4.20** en formant le centre quaternaire avant la cyclisation (Schéma 40). En effet, l'utilisation d'un acide de Lewis bidentate pourrait permettre la formation du chélate **ÉT4.4** afin d'obtenir un contrôle de la sélectivité par *effet endocyclique*

lors de la vinylation radicalaire intermoléculaire. Le produit acyclique 2,3-*anti* **4.21** pourrait ainsi être généré et une cyclisation de celui-ci permettrait d'obtenir la lactone 2,3-*syn* **3.7** désirée pour la synthèse de nos analogues. Cependant, cette méthode ne fut pas préférée à celle présentée au Schéma 39, puisque les acides de Lewis ainsi que la source de vinyle nécessaires à la formation du centre quaternaire contiennent différents métaux pouvant être nocifs, tels que l'étain.

Schéma 40. Formation potentielle du centre quaternaire carboné par transfert radicalaire intermoléculaire

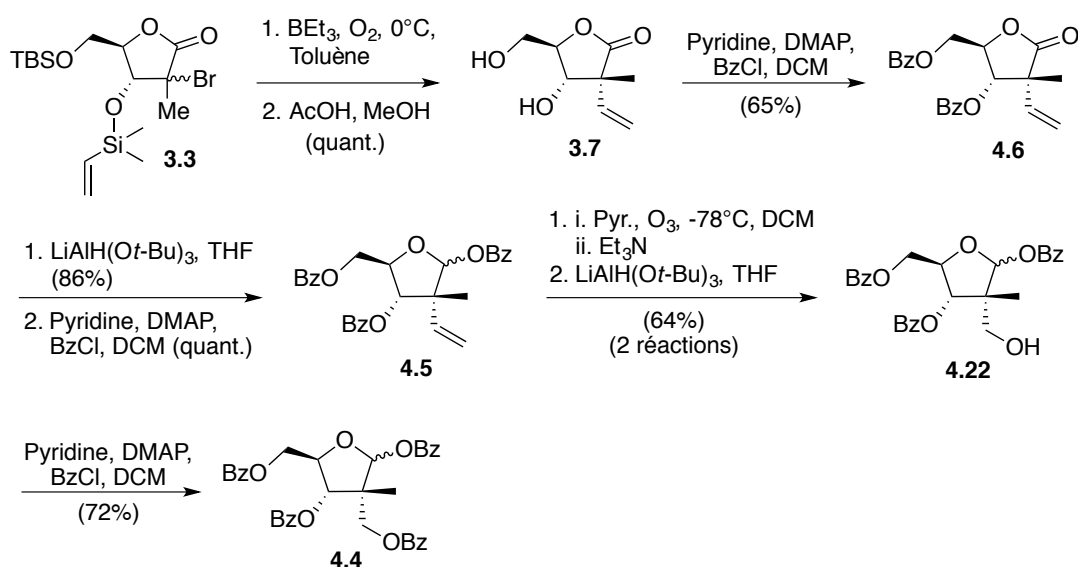


4.2.5. Synthèse du précurseur tétra-benzoylé pour la *N*-glycosylation

Maintenant que le centre quaternaire carboné a été formé par transfert radicalaire intramoléculaire à partir du précurseur cyclique **3.3**, il est désormais possible de fonctionnaliser le pseudo-ribofuranoside (**3.7**) obtenu afin de former l'intermédiaire **4.4** qui sera impliqué lors de l'étape clé qu'est la *N*-glycosylation (Schéma 41). Tout d'abord, les deux alcools libres sur le substrat **3.7** sont protégés par des groupements benzoyles afin d'obtenir la lactone **4.6**. Celle-ci peut être réduite en présence de $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ pour obtenir un mélange d'alcools libres en position anomérique. Ceux-ci sont ensuite protégés par un benzoyle afin de générer les

produits **4.5** avec un rendement élevé. Ces derniers sont ensuite soumis aux conditions d'ozonolyse afin d'oxyder l'oléfine terminale. L'utilisation du réducteur $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ permet de former l'alcool primaire (**4.22**) à partir de l'aldéhyde obtenu suite à l'ozonolyse. Pour finir, cet alcool est également protégé par un groupement benzoyle afin de générer le mélange d'anomères tétra-benzoylés **4.4** qui seront les précurseurs pour la réaction d'addition de l'adénine modifiée, soit la *N*-glycosylation.

Schéma 41. Synthèse de l'intermédiaire tétra-benzoylé

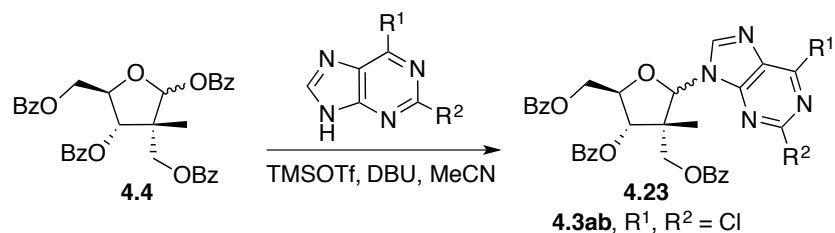


4.2.6. *N*-Glycosylation

Le composé **4.4** fonctionnalisé et portant un groupement partant en position anomérique peut désormais réagir avec différentes bases azotées dans des réactions de *N*-glycosylation. Les analogues de nucléosides désirés en tant qu'agents cardioprotecteurs sont de type adénosine, donc ils doivent contenir une pseudo-adénine comme base azotée et posséder une configuration β en position anomérique (**1.5**). Le Tableau 2 présente les différents ratios d'anomères (β et α)

ainsi que les rendements obtenus en fonction de la température réactionnelle et des bases de type adénine utilisées lors des *N*-glycosylations impliquant le TMSOTf et le DBU comme réactifs.¹¹⁴ De façon générale, les résultats obtenus soulignent qu’une diminution de la température lors de la glycosylation permettrait d’augmenter la sélectivité en faveur de l’anomère β . Les rendements obtenus sont plutôt satisfaisants, sauf pour la première entrée où un rendement de 31% a été observé en raison d’une décomposition partielle des produits à température élevée (90 °C). L’utilisation de la 2,6-dichloropurine avec une température réactionnelle de –10 °C a permis de générer les produits de glycosylation (**4.3ab**) avec le ratio d’anomères β : α le plus élevé, soit 8:1 (Entrée 6). Des analyses RMN et par diffraction des rayons X ont permis de confirmer la régiosélectivité en N-9 et d’identifier les anomères β et α (voir section 4.5).

Tableau 2. *N*-Glycosylation avec différentes adénines modifiées



Entrée	R^1, R^2	Temp. (°C)	Temps (h)	Ratio $\beta : \alpha$ ^a	Rend. ^c (%)
1	Cl, NH ₂	90	20	– ^b	31
2	Cl, NH ₂	70	3	3.6 : 1	65
3	Cl, NH ₂	25	20	4.3 : 1	75
4	Cl, Cl	65	1	4 : 1	78
5	Cl, Cl	0	1	5 : 1	80
6	Cl, Cl	–10	6	8 : 1	74
7	Cl, H	65	1	3.3 : 1	80

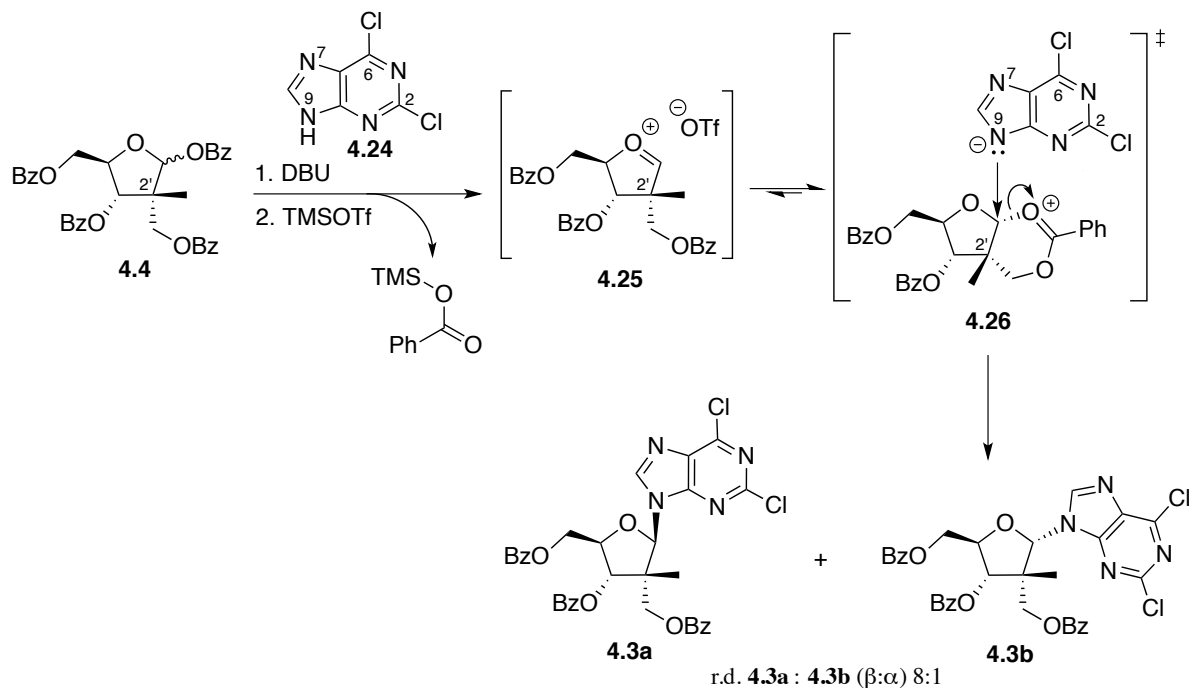
^a Ratio déterminé selon l’analyse RMN ¹H du mélange réactionnel brut. ^b Ratio non déterminé.

^c Rendement des produits isolés (anomères β et α).

4.2.6.1. Proposition mécanistique pour la *N*-glycosylation

L'obtention d'une sélectivité en faveur de l'anomère β (**4.3a**) lors de la glycosylation sur le précurseur tétra-benzoylé **4.4** peut être expliquée par le mécanisme proposé pour cette réaction ainsi que l'état de transition possiblement impliqué (Schéma 42). Tout d'abord, il est nécessaire d'activer la 2,6-dichloropurine (**4.24**). En effet, l'ajout de DBU en tant que base permet de déprotoner l'amine secondaire N-9 afin de rendre cette position plus nucléophile.¹¹⁵ Une autre manière d'augmenter le caractère nucléophile de la base azotée est d'effectuer la silylation de celle-ci. Toutefois, il a été observé précédemment par notre laboratoire que l'utilisation d'une pseudo-adénine silylée mène généralement à une régiosélectivité en N-7 non désirée lors de la *N*-glycosylation. Par conséquent, cette méthode impliquant une purine silylée a été écartée. Le TMSOTf est quant à lui utilisé en tant qu'acide de Lewis afin d'activer la position anomérique du substrat **4.4** en augmentant le caractère nucléofuge du groupement benzoylé. Cette activation permettrait de générer l'intermédiaire oxocarbénium **4.25** suite à l'élimination du TMSOBz anomérique. Le groupement benzoate présent au niveau du centre quaternaire carboné pourrait permettre un effet anchimérique en stabilisant l'oxocarbénium formé par une délocalisation de la charge positive.¹¹⁶ Ainsi, sur l'intermédiaire bicyclique **4.26** résultant, la face inférieure encombrée force l'approche de la base azotée activée par la face supérieure du nucléoside, ce qui mène à l'anomère β **4.3a**. L'assistance anchimérique et l'encombrement stérique provenant du centre quaternaire en C-2' sont donc invoqués pour le contrôle de la sélectivité en faveur du nucléoside β lors de la glycosylation.

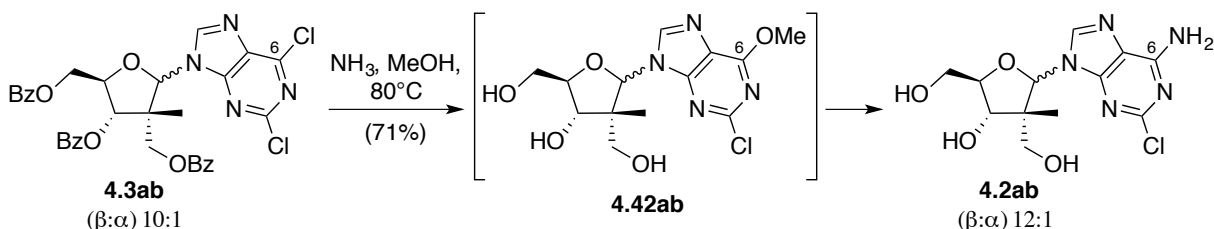
Schéma 42. Mécanisme proposé pour la *N*-glycosylation impliquant une assistance anchimérique



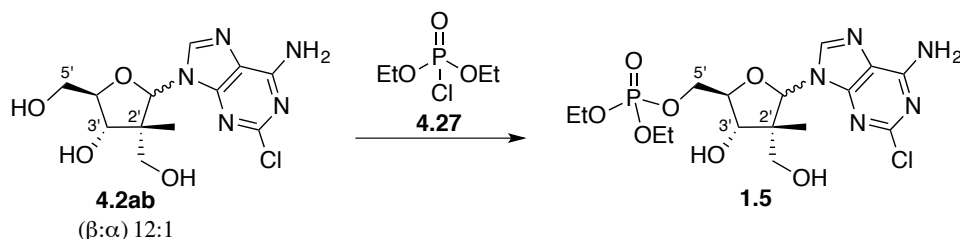
4.2.7. Suite et fin de la première voie de synthèse des analogues cardioprotecteurs

La purification par chromatographie *flash* du mélange d'anomères **4.3a:4.3b** (8:1) a permis d'éliminer une partie du nucléoside α afin d'enrichir le mélange en anomère β. Les nucléosides **4.3ab** (β:α, 10:1) ont par la suite été soumis à des conditions impliquant une forte concentration en ammoniac (NH₃) dans le méthanol, et ce, à 80 °C (Schéma 43). Cette réaction permet de cliver les groupements protecteurs benzoyles afin de générer les trois alcools libres, en plus de substituer *in situ* le chlore en position C-6 par l'amine NH₂.¹¹⁴ Cette substitution sur la purine passe d'abord par la formation des intermédiaires 6-méthoxy **4.42ab**. Les produits **4.2ab** (β:α, 12:1) sont ainsi obtenus avec un rendement acceptable de 71%.

Schéma 43. Déprotection des alcools et substitution du chlore en C-6 ¹¹⁴



À partir des substrats **4.2ab**, nous avons tenté d'introduire de façon sélective le monophosphate diéthylé **4.27** sur l'hydroxyle en position C-5' dans le but d'obtenir directement le produit final désiré **1.5** en tant que premier analogue cardioprotecteur (Tableau 3). Selon notre hypothèse, l'hydroxyle en C-5' devrait réagir en premier puisqu'il est primaire comparativement à celui en C-3' qui est secondaire, donc plus encombré. Également, l'encombrement stérique causé par le centre quaternaire en C-2' rendrait plus difficile l'approche du monophosphate **4.27** vers l'hydroxyle primaire en C-2'. Cependant, après avoir exploré différentes conditions réactionnelles en milieu basique, il est possible de constater que l'introduction sélective du monophosphate en C-5' n'est pas une option efficace. En effet, l'utilisation d'un excès de bases relativement faibles, telles que la pyridine et la triéthylamine, a rapidement été écartée pour cette réaction en raison de leur inefficacité (Entrées 1 et 2). Une base forte, soit le *t*-BuMgCl, a permis de former le produit désiré **1.5**, mais avec un faible taux de conversion dans tous les cas ainsi qu'une sélectivité quasi nulle pour le 5'-hydroxyle versus les alcools en C-3' et C-2' (Entrées 3 à 8). Ces résultats peu encourageants nous ont incité à développer une autre stratégie de synthèse afin de générer le 5'-monophosphate **1.5**.

Tableau 3. Insertion sélective du monophosphate en position C-5'

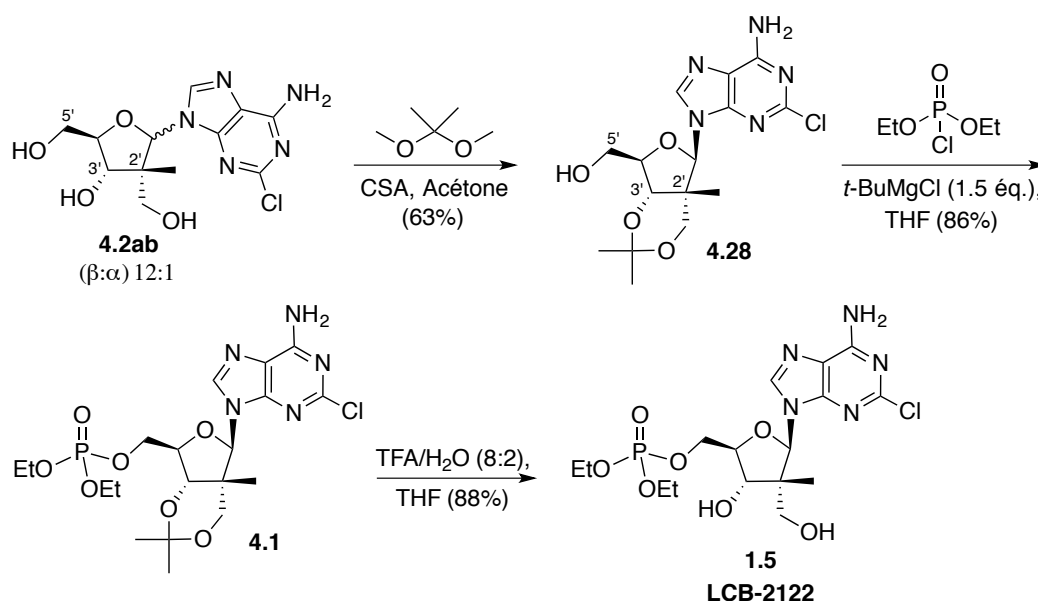
Entrée	Base (Éq.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Rend. ^a (%)
1	Pyridine (0.1 M)	—	25	20	— ^b
2	Et ₃ N (5.0)	DCM	25	16	— ^b
3	<i>t</i> -BuMgCl (1.1)	THF	25	24	Trace ^c
4	<i>t</i> -BuMgCl (1.1)	THF	−40	24	32 ^d
5	<i>t</i> -BuMgCl (1.5)	THF	25	24	Trace ^c
6	<i>t</i> -BuMgCl (1.5)	THF	0	24	Trace ^c
7	<i>t</i> -BuMgCl (2.0)	THF	25	24	Trace ^c
8	<i>t</i> -BuMgCl (2.0)	THF	0	24	Trace ^c

^a Rendement des produits isolés (anomères β et α). ^b Produit de départ observé. ^c Produit de départ observé majoritairement avec un mélange de produits phosphatés non désirés. ^d Produit de départ observé majoritairement.

Une brève revue de la littérature nous a mené à une stratégie impliquant la protection des hydroxyles en C-2' et C-3' en une seule étape afin de former le nucléoside 2',3'-acétonide **4.28** à partir des triols **4.2ab** (Schéma 44).¹¹⁷ En effet, l'utilisation du 2,2-diméthoxypropane en condition acide permet de protéger sélectivement l'hydroxyle secondaire ainsi que celui du centre quaternaire en C-2' sous forme d'acétonide. La purification par chromatographie *flash* du mélange de nucléosides 2',3'-acétonide obtenu a permis d'éliminer toutes traces d'anomère α , menant ainsi à l'obtention de l'anomère β **4.28** avec l'hydroxyle libre en C-5'. Par conséquent, ayant seulement l'hydroxyle visé de libre pour la mono-phosphorylation, celle-ci

peut désormais se produire facilement en présence de *t*-BuMgCl et du diéthyl chlorophosphate. Le composé 5'-monophosphaté **4.1** est ainsi obtenu avec un rendement élevé de 86%. Finalement, l'acétonide servant de groupement protecteur temporaire peut être clivé en condition acide (TFA/H₂O), générant ainsi le produit final **1.5**, soit l'analogue de nucléoside **LCB-2122**.

Schéma 44. Dernières étapes de la première voie de synthèse

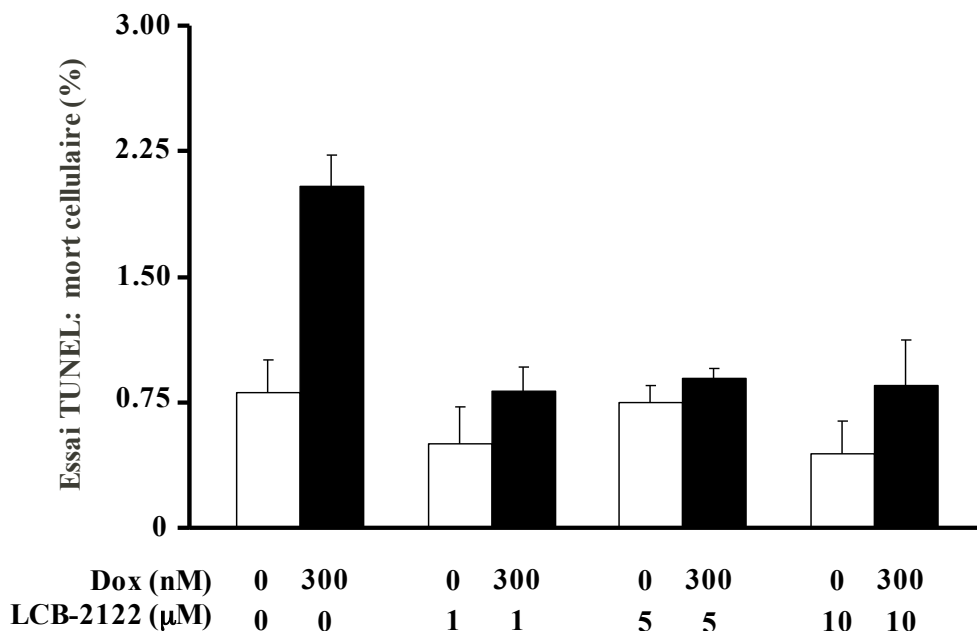


4.3. Résultats biologiques préliminaires

Les premières études biologiques *in vitro* menées sur le composé **1.5** (**LCB-2122**) par le Dr Waël Maharsy au laboratoire du Pr Mona Nemer à l'Université d'Ottawa ont permis de confirmer le potentiel cardioprotecteur de celui-ci. Les résultats apparaissant à la Figure 12 souligne d'abord que la doxorubicine (Dox), un médicament anticancéreux utilisé en chimiothérapie, possède une toxicité envers les cardiomyocytes. En effet, le pourcentage relié à l'apoptose des cardiomyocytes est un peu plus que doublé en présence de Dox. L'ajout d'une

dose de 1, 5 ou 10 μM de notre composé **LCB-2122** sur ces cardiomyocytes traités avec Dox permet de ramener le pourcentage relié à la mort cellulaire à son point d'origine, c'est-à-dire avant le traitement avec Dox. De plus, les différentes doses de **LCB-2122** n'ont aucun effet cytotoxique significatif sur les cardiomyocytes sains. Par conséquent, ces résultats préliminaires démontrent le potentiel cardioprotecteur que possède l'analogue **LCB-2122**.

Figure 12. Mort cellulaire observée *in vitro* chez des cardiomyocytes traités avec la doxorubicine en fonction de la dose de **LCB-2122**



4.4. Autres analogues synthétisés à des fins d'études de relation structure-activité

Les résultats biologiques prometteurs qui ont été obtenus pour le composé **1.5** (**LCB-2122**) nous ont encouragé à continuer dans la voie des agents cardioprotecteurs en développant d'autres analogues afin d'effectuer des études de relation structure-activité (*SAR*). Pour ce faire, des modifications ont été apportées au niveau du monophosphate, de la base azotée ainsi que sur l'hydroxyle primaire relié au centre quaternaire carboné. De plus, afin de

déterminer l'importance du monophosphate en tant que prodrogue ou non dans le mécanisme d'action biologique, le nucléoside β **4.2a** (voir Schéma 44) avec l'hydroxyle libre en C-5' a été envoyé en test biologique (Université d'Ottawa, Pr Mona Nemer).

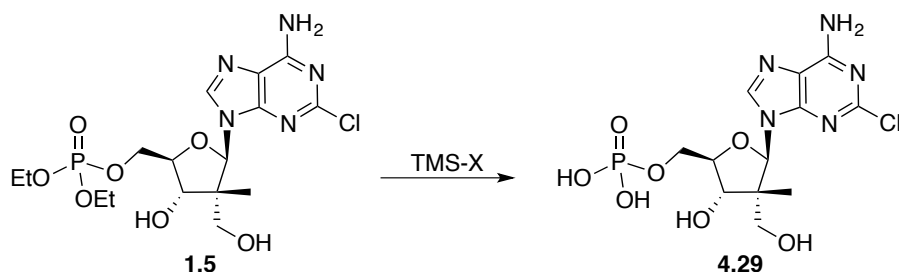
4.4.1. Modification du 5'-monophosphate

En ayant sous la main une synthèse efficace permettant d'obtenir le produit final **1.5** (**LCB-2122**), la modification directe de ce dernier sans avoir à changer la voie de synthèse semblait être une approche efficace afin d'obtenir d'autres analogues. La modification du 5'-monophosphate diéthylé fut étudiée en premier lieu.

La présence des deux substituants de type éthyle sur le 5'-monophosphate rend celui-ci non chargé, donc plus lipophile. Cette propriété nous permet de suggérer que notre agent cardioprotecteur peut possiblement entrer à l'intérieur de la cellule par transport passif, ce qui augmenterait sa biodisponibilité. À l'inverse, lorsque le 5'-monophosphate est dit chargé, c'est-à-dire sans substituant, cela implique qu'il devra être clivé de façon enzymatique afin que le composé se retrouve sous sa forme pseudo-adénosine et puisse entrer dans la cellule avec l'aide de différents effecteurs membranaires. Ainsi, dans le but d'étudier l'effet du diéthyl monophosphate sur l'activité biologique, le produit final **4.29** avec le 5'-monophosphate non substitué a été synthétisé. Des conditions proposées par Pochet *et al.*¹¹⁸ ont d'abord été testées afin d'obtenir le produit **4.29** directement à partir du composé **1.5** (Tableau 4). L'utilisation d'un excès de TMS-Br dans l'acétonitrile à 65 °C n'a permis aucune conversion du substrat de départ **1.5** (Entrées 1 et 2). En changeant l'acétonitrile par un solvant permettant de mieux solubiliser les composés impliqués, soit le DMF, des produits de décomposition ont été observés à

température ambiante sans trace du produit désiré **4.29** (Entrées 3 et 4). Finalement, l'utilisation d'un excès de TMS-I a également été envisagée, mais le résultat ne fut pas plus concluant (Entrée 5).

Tableau 4. Déprotection du diéthyl monophosphate à partir du composé **1.5**



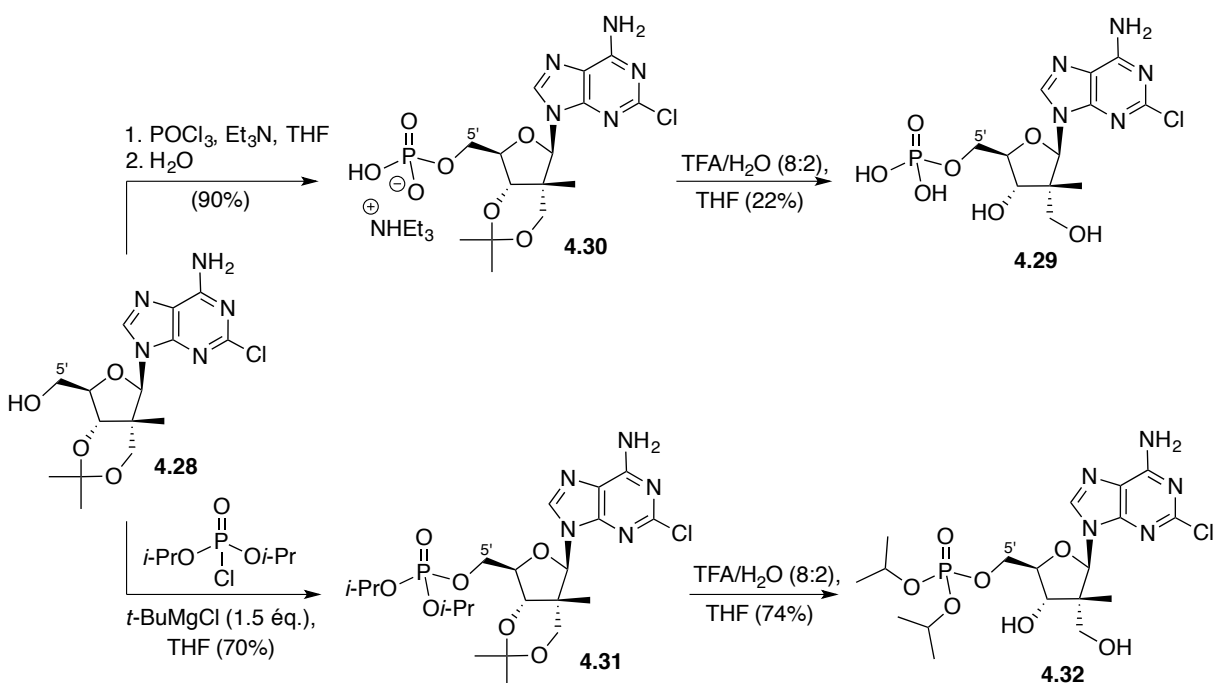
Entrée	X	Éq. de TMS-X	Solvant	Temps (h)	Temp. (°C)	Rend. ^a (%)
1	Br	6	CH ₃ CN	1	65	— ^b
2	Br	10	CH ₃ CN	2	65	— ^b
3	Br	10	DMF	16	25	— ^c
4	Br	20	DMF	24	25	— ^c
5	I	10	DCM	16	25	— ^c

^a Rendement des produits isolés. ^b Produit de départ observé. ^c Produits de départ et de décomposition observés.

Puisque les conditions permettant d'obtenir l'analogue **4.29** directement à partir du produit **1.5** sont plutôt limitées, nous avons opté pour l'insertion du monophosphate non substitué sur l'intermédiaire **4.28** (Schéma 45). En effet, la réaction d'addition du POCl₃ sur l'hydroxyle en C-5' en condition basique permet de générer l'intermédiaire **4.30** suite à la substitution des chlores en présence d'eau. Ce composé (**4.30**) est obtenu sous forme d'un sel de triéthylammonium au niveau de l'acide phosphorique. Le produit final **4.29** peut ensuite être obtenu par déprotection de l'acétonide en condition acide (TFA/H₂O). Cette réaction obtient

cependant un rendement faible de 22% qui peut être expliqué par les difficultés rencontrées lors de la purification du composé **4.29**, celui-ci ayant une polarité très élevée. Néanmoins, il a été possible de générer l'analogue avec le 5'-monophosphate non substitué (**4.29**) en deux étapes rapides à partir de l'intermédiaire **4.28**.

Schéma 45. Synthèse des analogues **4.29** et **4.32** à partir du même intermédiaire **4.28**



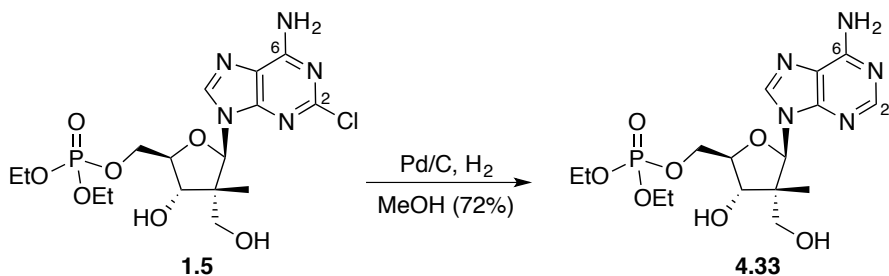
Le composé **4.28** avec l'hydroxyle libre en C-5' peut également donner accès à un autre analogue de façon efficace. En effet, la substitution du diéthyl monophosphate par son homologue diisopropylé permet d'étudier la variation de l'activité biologique en fonction de la stabilité et de la nature lipophile des substituants présents sur le 5'-monophosphate (Schéma 45). Ainsi, le composé **4.31** peut être synthétisé à partir de l'intermédiaire **4.28** en présence de $t\text{-BuMgCl}$ qui permet de former l'alkoxyde en C-5', celui-ci pouvant réagir par la suite avec le diisopropyl chlorophosphate. Une fois le composé **4.31** obtenu, il suffit de cliver

l'acétonide en condition acide afin de générer l'analogue diisopropylé **4.32** avec un bon rendement de 74%. Ces résultats soulignent l'importance de l'intermédiaire **4.28** afin d'apporter une diversité au niveau du 5'-monophosphate, donnant ainsi accès à plusieurs analogues à partir d'un même substrat clé.

4.4.2. Modification sur la base azotée

Le composé **1.5** contient une adénine modifiée, c'est-à-dire qu'un chlore est présent en position C-2 de celle-ci. Cet ajout devrait augmenter sa résistance face à la désamination induite par l'adénosine désaminase (ADA) une fois dans le milieu cellulaire. Une façon rapide de valider cette hypothèse est de synthétiser l'analogue avec une adénine naturelle en tant que base azotée (**4.33**). Afin d'y arriver sans avoir à modifier la synthèse du composé **1.5**, il a été envisagé d'utiliser une méthode impliquant une déchlorination en position C-2 de la pseudo-adénine (Schéma 46).^{9a} En effet, en soumettant le composé **1.5** à des conditions d'hydrogénation, soit en présence de palladium sur charbon (Pd/C) sous atmosphère d'hydrogène (H₂), il a été possible de substituer le chlore en C-2 par un hydrogène, menant ainsi à l'analogue **4.33** possédant une adénine.

Schéma 46. Synthèse de l'analogue possédant une adénine comme base azotée



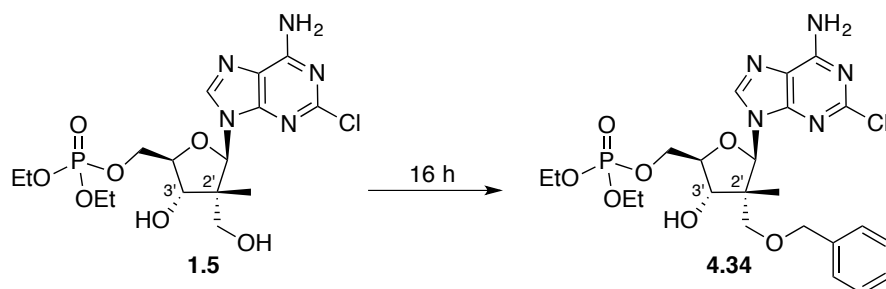
4.4.3. Insertion d'un groupement benzyle en position C-2'

Il a été discuté précédemment que l'un des objectifs de cet ouvrage est d'étudier le mécanisme d'action biologique de nos analogues cardioprotecteurs. Pour ce faire, une sonde de photo-affinité doit être liée au composé **1.5**, sans toutefois modifier son activité biologique. Cette stratégie de photo-affinité ainsi que la synthèse des molécules qui y sont reliées seront discutées en détail au prochain chapitre (Chapitre 5). Pour l'instant, afin de déterminer à quel endroit seront liées ces sondes de type aromatique sur l'analogue **1.5**, il faut d'abord tenter d'insérer un groupement aromatique assez simple sur une fonction relativement accessible afin d'étudier l'impact de cet ajout sur l'activité biologique. Nous avons donc décidé de greffer un benzyle sur l'hydroxyle primaire en position C-2'.

La première méthode qui a été testée est d'introduire directement le benzyle sur le composé **1.5** en profitant de la différence d'encombrement entre les deux hydroxyles libres (Tableau 5). Le benzyle devrait ainsi s'additionner de façon sélective sur l'alcool primaire en C-2' puisque celui en C-3' est secondaire. L'utilisation du NaH comme base devrait permettre de former l'alkoxyde en C-2', celui-ci pouvant ensuite réagir avec le bromure de benzyle (BnBr) par un mécanisme de type S_N2. Cette réaction à température ambiante n'a qu'un faible taux de conversion, et aucune sélectivité spécifique pour la position C-2'. En augmentant la température, on observe un rendement plus élevé, cependant, c'est un mélange de produits non séparables qui est obtenu (Entrées 1 et 2). Le *t*-BuMgCl et le KOH ont également été testés comme sources basiques à une température réactionnelle de 50 °C. Ces conditions n'ont pas donné de meilleurs résultats puisqu'une majorité de produit de départ est observée après 16 h de réaction (Entrées 3 et 4). L'utilisation du benzyl 2,2,2-trichloroacétimidate (BnOC(=NH)CCl₃) en tant que source

de benzyle avec une quantité catalytique de TfOH a aussi été envisagée comme condition réactionnelle (Entrées 5 et 6). Toutefois, l'introduction du benzyle en condition acide n'a pas été plus concluante. En effet, aucun produit final **4.34** désiré n'est observé. Les faibles taux de conversion ainsi que l'absence de sélectivité obtenus au Tableau 5 peuvent s'expliquer en partie par l'encombrement stérique causé par le centre quaternaire carboné, ce qui rend l'approche du réactif benzylé plus ardue.

Tableau 5. Insertion sélective du benzyle sur l'alcool en position C-2'



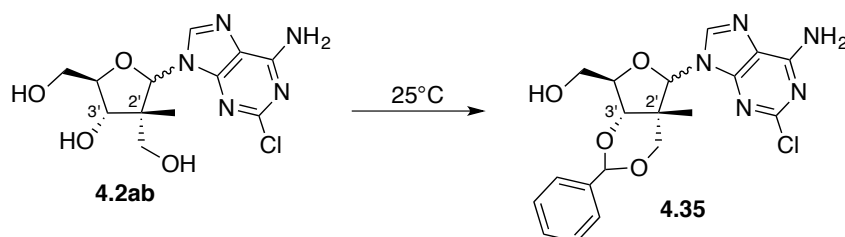
Entrée	Base/Acide (Éq.)	Source benzyle (Bn)	Solvant	Temp. (°C)	Rend. ^a (%)
1	NaH (1.5)	BnBr	DMF	25	Trace ^b
2	NaH (1.5)	BnBr	DMF	65	45 ^c
3	<i>t</i> -BuMgCl (3.0)	BnBr	THF	50	— ^d
4	KOH (1.1)	BnBr	DMSO	50	— ^e
5	TfOH (0.1)	BnOC=NHCCl ₃	DCM/Cyclohex.	25	— ^d
6	TfOH (0.1)	BnOC=NHCCl ₃	DCM/Cyclohex.	40	— ^d

^a Rendement des produits isolés. ^b Produit de départ observé majoritairement avec un mélange de produits benzylés. ^c Mélange de produits non séparables. ^d Produit de départ observé. ^e Produits de départ et de décomposition observés.

Suite aux résultats précédents peu encourageants, une deuxième stratégie a été proposée afin de synthétiser l'analogue **4.34**. À partir du substrat **4.2ab** dont la synthèse a été détaillée

précédemment dans ce chapitre, il est envisageable d'insérer de façon sélective un groupement benzylidène sur les hydroxyles en C-2' et C-3', ce qui mène au produit **4.35** (Tableau 6). Une fois le monophosphate ajouté en position C-5', il suffit de faire une ouverture sélective du groupement benzylidène afin de régénérer l'alcool libre en C-3' et d'obtenir le benzyle en C-2'. Tout d'abord, l'emploi d'une quantité catalytique de PPTS comme acide avec le PhCH(OMe)_2 comme source de benzylidène a permis de former le produit **4.35** avec des rendements très faibles (Entrées 1 et 2). Une augmentation de la quantité de PPTS n'a pas mené à des résultats plus concluants (Entrée 3). De plus, la substitution du PPTS par un acide plus fort, soit le CSA, n'a pas permis la formation du 2',3'-benzylidène **4.35** (Entrée 4).

Tableau 6. Formation sélective du 2',3'-benzylidène à partir du substrat **4.2ab**

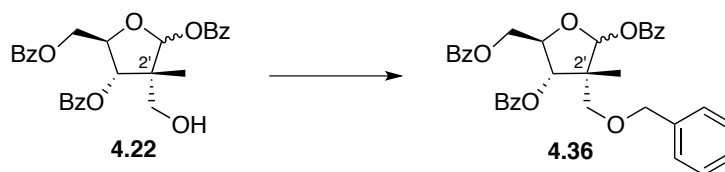


Entrée	Acide (Éq.)	Source benzylidène	Solvant	Temps (h)	Rend. ^a (%)
1	PPTS (0.1)	PhCH(OMe)_2	DCM/DMF	24	12 ^b
2	PPTS (0.2)	PhCH(OMe)_2	DMA	7	Trace ^{b,c}
3	PPTS (1.5)	PhCH(OMe)_2	DCM ou DMF	72	— ^b
4	CSA (1.0)	PhCH(OMe)_2	Acétone	16	— ^b
5	POCl_3 (2.0)	PhCH(OMe)_2	CH_3CN	6	26 ^d
6	ZnCl_2 (5.0)	Benzaldéhyde	Benzaldéhyde	72	Trace ^b

^a Rendement des produits isolés (anomères β et α). ^b Produit de départ observé majoritairement avec des produits de décomposition. ^c Réaction effectuée à 65 °C. ^d Produit de départ observé majoritairement.

Pour continuer, l'utilisation de conditions acides aprotiques, telles que le POCl_3 et le ZnCl_2 , ont respectivement été testées avec le $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$ et le benzaldéhyde (Tableau 6, Entrées 5 et 6). Dans les deux derniers exemples, ainsi que pour les autres présentés au Tableau 6, les faibles rendements obtenus et la présence de produits de décomposition dans certains cas nous ont contraint à écarter cette stratégie employant la formation du 2',3'-benzylidène.

Dans le but de trouver une solution afin d'arriver à introduire le benzyle, les différentes étapes de la synthèse de la molécule **1.5** ont été étudiées. Cela a permis d'observer que le benzyle pourrait être installé en position C-2' sur le substrat tri-benzoylé **4.22** avant la *N*-glycosylation (Tableau 7). L'utilisation du BnBr en conditions basiques fortes, soit avec NaH ou KHMDS, n'a pas mené à la formation du produit benzylé **4.36** à partir du substrat **4.22** (Entrées 1 à 4). Toutefois, l'utilisation du benzyl 2,2,2-trichloroacétimide ($\text{BnOC}(\text{Cl})_3$) en tant que source de benzyle avec une quantité catalytique de TfOH a pour sa part mené à la formation du produit **4.36** désiré avec un rendement de 45% à 0 °C (Entrée 6). Une augmentation de la température réactionnelle à 25 °C a permis d'obtenir un rendement satisfaisant de 75% pour la formation du produit 2'-benzylé **4.36** (Entrée 7). Cependant, aucun produit désiré n'est observé lorsque cette même réaction est effectuée en employant seulement du dichlorométhane (DCM) comme solvant (Entrée 5).

Tableau 7. Benzyltion de l'hydroxyle en C-2' avant la *N*-glycosylation

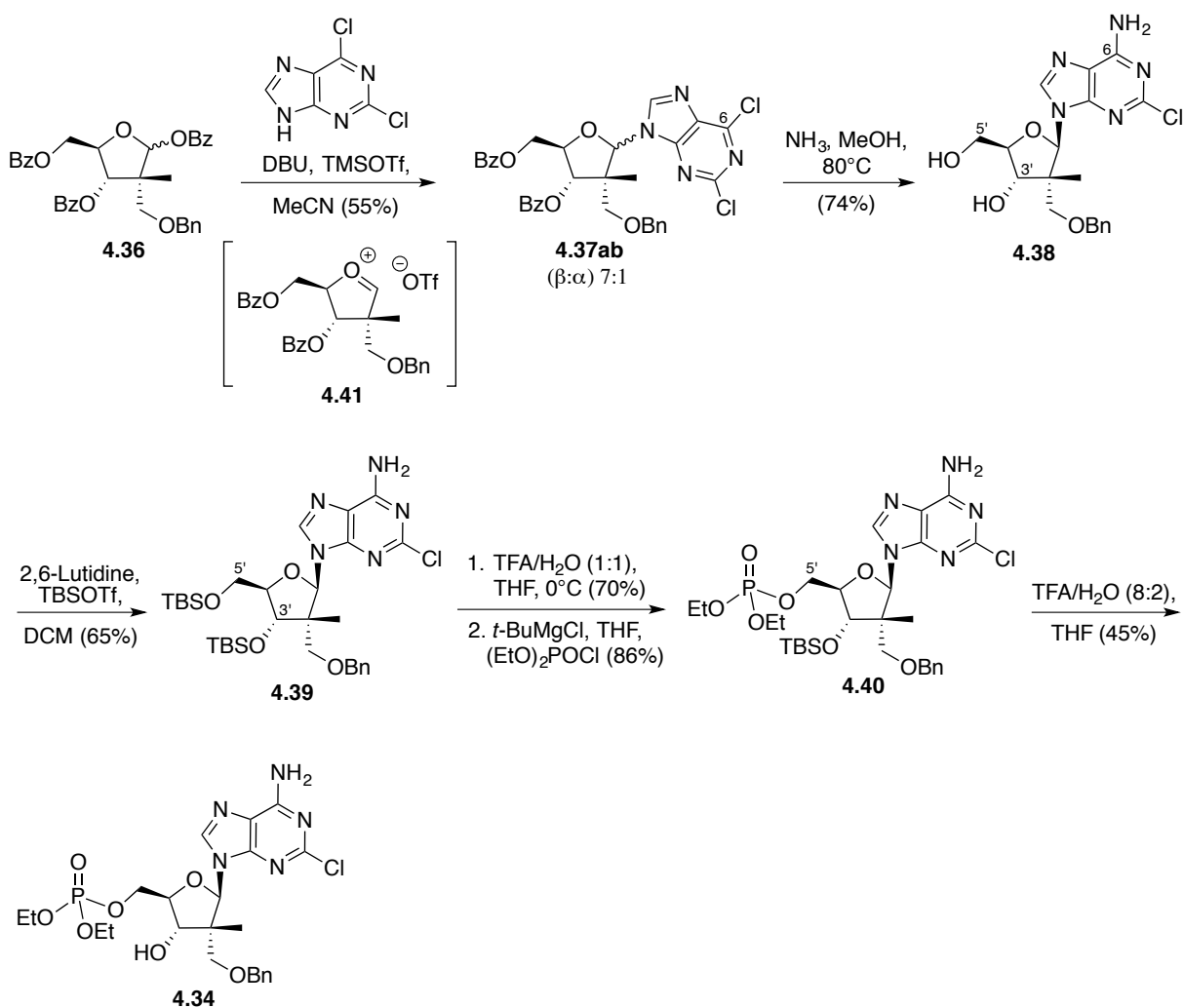
Entrée	Base/Acide	Source benzyle (Bn)	Solvant	Temp. (°C)	Rend. ^b (%)
1	NaH	BnBr	THF	25	– ^c
2	NaH	BnBr	DMF	25	Trace ^d
3	NaH, TBAI	BnBr	DMF	25	Trace ^d
4	KHMDS	BnBr	THF	25	– ^c
5	TfOH ^a	BnOC=NHCCl ₃	DCM	25	– ^c
6	TfOH ^a	BnOC=NHCCl ₃	DCM/Cyclohex.	0	45
7	TfOH ^a	BnOC=NHCCl ₃	DCM/Cyclohex.	25	75

^a Quantité catalytique (0.1 éq.). ^b Rendement des produits isolés (anomères β et α). ^c Produit de départ observé. ^d Produit de départ observé majoritairement.

Une fois le composé **4.36** synthétisé, la *N*-glycosylation peut se faire avec la 2,6-dichloropurine qui est préalablement activée par le DBU (Schéma 47). Cette base azotée s'ajoute sur l'intermédiaire oxocarbenium **4.41** formé, et ce, par la face opposée à celle du groupement benzyle en C-2'. En effet, l'encombrement stérique créé par l'éther benzylé au niveau du centre quaternaire carboné pourrait être à l'origine du contrôle de la sélectivité obtenue en faveur de l'anomère β lors de la glycosylation. De plus, le groupement 3'-benzoate pourrait possiblement permettre d'obtenir un effet anchimérique en stabilisant l'oxocarbenium **4.41** formé (voir Schéma 42 pour l'assistance anchimérique). Cette stabilisation contraindrait aussi l'approche de la base azotée par la face supérieure du sucre afin de mener au nucléoside β. Par conséquent, la *N*-glycosylation à partir du substrat **4.36** mène à la formation

des nucléosides **4.37ab** dans un ratio d'anomères $\beta:\alpha$ de 7:1. La purification de ce mélange par chromatographie *flash* a permis d'éliminer l'anomère α non désiré. Des analyses RMN ont permis de confirmer la régiosélectivité en N-9 pour la glycosylation et d'identifier l'anomère β (voir section 4.5). Le nucléoside β **4.37a** a ensuite été soumis à des conditions de déprotection des benzoates afin de former le diol **4.38** avec un rendement de 74%. Cette réaction en présence d'ammoniac mène également à la substitution du chlore en C-6 par l'amine NH_2 .¹¹⁴

Schéma 47. Synthèse de l'analogue benzylé en C-2'



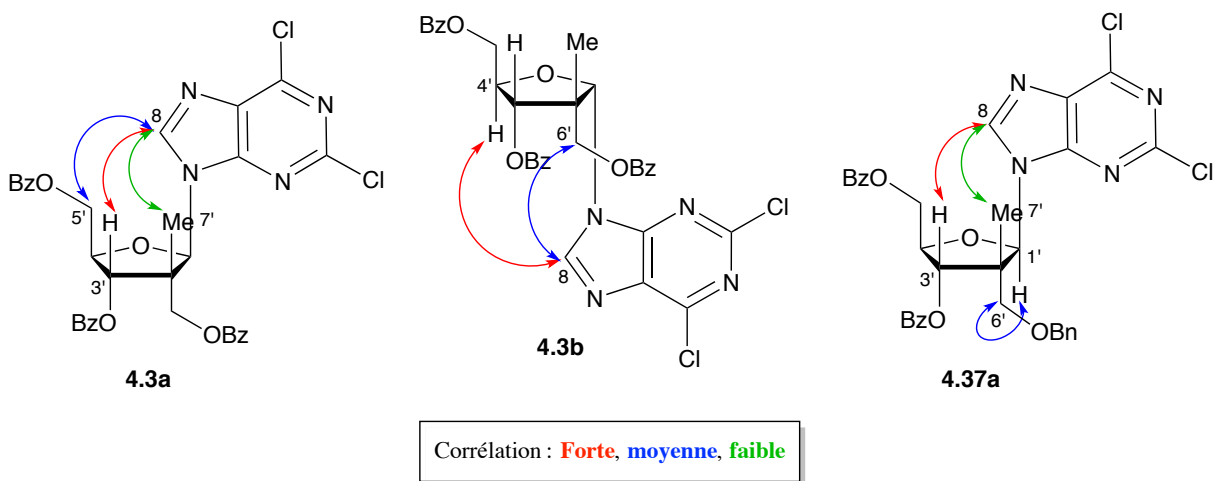
Suite aux essais peu concluants présentés au Tableau 3 afin d'insérer le monophosphate sélectivement en C-5', une stratégie alternative a été utilisée (Schéma 47). Celle-ci implique d'abord la protection des hydroxyles en C-3' et C-5' par des groupements silylés TBS dans le but de générer le produit **4.39**. Une désilylation sélective en C-5' peut ensuite être effectuée en condition acide modérée (TFA/H₂O, 1:1) à une température de 0 °C afin de s'assurer d'une bonne sélectivité.¹¹⁹ Le monophosphate diéthylé est par la suite additionné sur l'intermédiaire 5'-désilylé pour ainsi générer le composé **4.40**. Pour finir, l'analogue **4.34** comportant un benzyle en C-2' est obtenu suite au clivage du groupement TBS restant.

4.5. Preuves de structure

Les analogues de nucléosides synthétisés et présentés dans ce chapitre ont tous été caractérisés (voir Annexe A) et différentes analyses ont été réalisées afin de confirmer la stéréochimie du centre quaternaire carboné en C-2', la configuration β au niveau du carbone anomérique ainsi que la régiosélectivité en N-9 pour les différentes glycosylations.

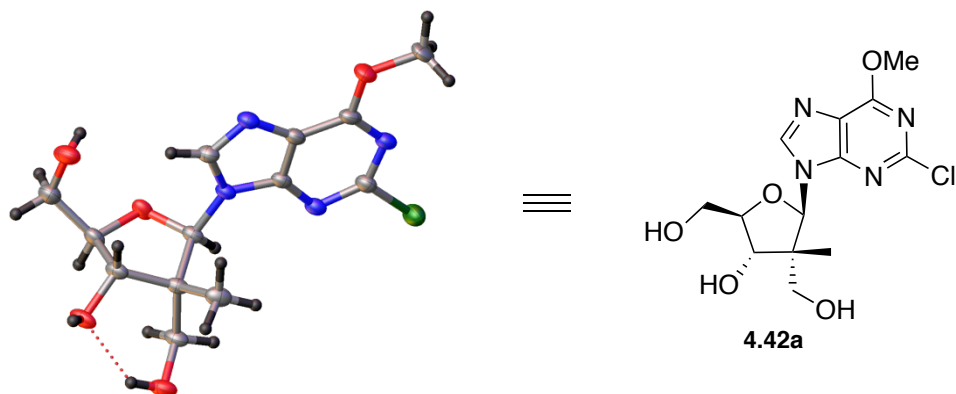
Tout d'abord, l'analyse des composés **4.3a**, **4.3b** et **4.37a** via des expériences nOe par RMN ¹H a permis de prouver leur configuration β et α (Figure 13). En effet, une forte corrélation entre les protons H-3' et H-8 des composés **4.3a** et **4.37a** a mené à la confirmation de leur stéréochimie β , tandis qu'une forte corrélation entre les protons H-4' et H-8 du composé **4.3b** a permis de confirmer la configuration α . De plus, d'autres effets nOe ont également été observés pour ces nucléosides afin de prouver que ces derniers possèdent la stéréochimie désirée au niveau du centre quaternaire carboné en C-2'.

Figure 13. Détermination de la configuration du carbone anomérique et du centre quaternaire pour les nucléosides **4.3a**, **4.3b** et **4.37a** via des expériences nOe par RMN ^1H



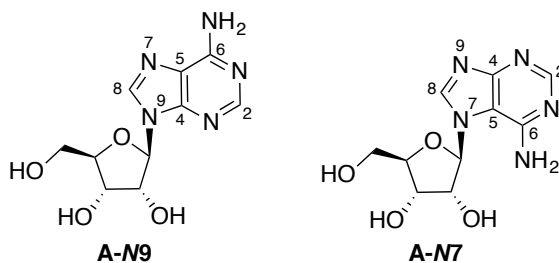
Ensuite, le mélange d'intermédiaires **4.42ab** présenté au Schéma 43 a pu être isolé et purifié afin d'obtenir le nucléoside β **4.42a**. Ce dernier a été cristallisé avec succès dans l'acétate d'éthyle. Ainsi, la structure du composé **4.42a** a été confirmée suite à une analyse par diffraction des rayons X (Figure 14). Cette étude cristallographique a clairement révélé que la liaison *N*-glycosidique a eu lieu en position N-9 de la purine. Également, cette analyse par diffraction des rayons X a prouvé la configuration β du nucléoside ainsi que la stéréochimie du centre quaternaire carboné en C-2'.

Figure 14. Détermination de la structure du nucléoside **4.42a** par diffraction des rayons X



Il est aussi possible de déterminer efficacement la régiosélectivité en N-9 ou N-7 lors des différentes glycosylations par une observation du déplacement chimique du carbone en C-5 de la purine. En effet, l'identification de ce carbone en RMN ^{13}C est évidente, puisque son déplacement chimique affiche une valeur nettement inférieure à celle de tous les autres carbones de la purine. Afin d'appuyer ces propos, il suffit d'observer le Tableau 8 où sont présentés les déplacements chimiques des cinq carbones de l'adénine présente sur l'adénosine (**A-N9**) et sur son régioisomère N-7 non naturel (**A-N7**).¹²⁰ La corrélation repose sur le déplacement chimique en C-5 qui est systématiquement plus élevé pour le régioisomère N-9 (**A-N9**), et ce, d'une valeur d'environ 10 ppm. Cette distinction rapide et efficace est un moyen répandu afin d'identifier la régiosélectivité en N-9 ou N-7 lors des glycosylations avec des purines.¹²¹

Tableau 8. Corrélation des déplacements chimiques (δ) du carbone C-5 des purines selon la régiochimie de la liaison N-glycosidique¹²⁰



Entrée	Composé	δ C-2 (ppm)	δ C-4 (ppm)	δ C-5 (ppm)	δ C-6 (ppm)	δ C-8 (ppm)
1	A-N9	152.4	149.1	119.4	156.2	140.0
2	A-N7	152.6	160.7	110.1	151.5	144.4

Cette tendance a été observée chez les composés **4.2a** et **4.38** (voir Schémas 43 et 47), ceux-ci étant issus des deux différentes glycosylations qui ont été effectuées dans ce chapitre. En effet, les déplacements chimiques en C-5 de la 2-chloro-6-aminopurine sont respectivement

de 117.9 ppm et 117.6 ppm pour ces deux nucléosides (voir Annexe A), ce qui élimine la présence potentielle de régioisomères N-7. Il est important de mentionner que l'ajout d'un chlore en C-2 sur l'adénine n'affecte pratiquement pas les déplacements chimiques de ses carbones en RMN ^{13}C . Par conséquent, cette constatation nous a permis d'appliquer sans contrainte cette méthode d'analyse par RMN ^{13}C afin de confirmer la régiosélectivité en N-9 pour les *N*-glycosylations étudiées.

4.6. Conclusion et perspectives

Les différents analogues synthétisés ont tous été envoyés pour des études biologiques au laboratoire du Pr Nemer à l'Université d'Ottawa. Des tests *in vitro* ont été effectués sur des cardiomyocytes traités avec un agent anticancéreux cardiotoxique, soit la doxorubicine (Dox). Au moment où ce mémoire est rédigé, les résultats obtenus pour la majorité des analogues testés n'ont pas encore été traités et analysés. Néanmoins, il est possible d'affirmer que le composé **1.5 (LCB-2122)** reste celui qui possède à ce jour l'activité biologique la plus prometteuse. Toutefois, il est important de mentionner que les résultats préliminaires obtenus pour l'analogue **4.34** avec le benzyle en C-2' sont encourageants. En effet, ce composé obtient une activité biologique comparable à celle de la molécule **1.5**. Avec ces informations en mains, il est désormais possible de supposer que l'ajout d'une sonde de photo-affinité en position C-2' permettrait d'étudier le mécanisme d'action de nos agents cardioprotecteurs sans toutefois diminuer l'activité biologique observée. Par conséquent, la synthèse de ces analogues comportant différentes sondes de photo-affinité représente un nouveau défi. De plus, il serait également utile de synthétiser des dérivés possédant des groupements phosphonates ou des esters carboxyliques en position C-5' afin d'augmenter la stabilité *in vivo* de nos analogues. En

effet, il est connu que les groupements 5'-monophosphates présents sur les différents nucléosides discutés dans ce mémoire sont sujets à être hydrolysés en milieu biologique sous l'action de différentes nucléotidases.¹⁰ Des études biologiques menées sur ces nouveaux dérivés permettraient donc de déterminer l'importance du groupement en C-5' lors de la reconnaissance par les récepteurs biologiques désirés, ainsi que l'implication d'une stratégie prodrogue ou non dans le mécanisme d'action biologique de nos analogues cardioprotecteurs.

CHAPITRE 5. SYNTHÈSE D'ANALOGUES COMPORTANT UNE SONDE DE PHOTO-AFFINITÉ

5.1. Introduction

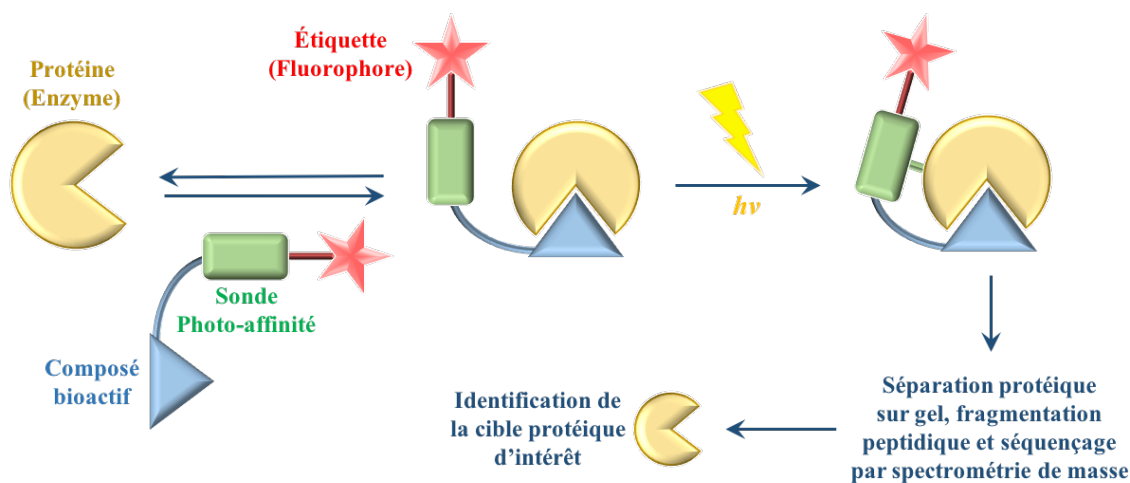
La découverte et la synthèse de nouveaux traitements thérapeutiques sont au cœur du domaine de la chimie médicinale. Afin de développer ces nouveaux composés et d'améliorer leurs activités biologiques, il est nécessaire d'étudier leur mécanisme d'action en déterminant l'emplacement et la structure des sites actifs protéiques auxquels ils se lient. Au cours de la dernière décennie, une méthode efficace permettant cette étude biologique a été mise de l'avant, soit l'utilisation de sondes de photo-affinité (*photoaffinity labeling*). Cette stratégie implique l'utilisation de différents types de sondes chimiques qui sont liés aux composés dont on veut déterminer le mécanisme biologique. Ces sondes sont photo-activées par différentes longueurs d'onde, et en réponse à cette activation, elles se lient de façon covalente à la cible biologique d'intérêt.¹²² Ce chapitre met d'abord l'accent sur le principe et l'utilité des sondes de photo-affinité en chimie médicinale, pour ensuite discuter de l'application de cette stratégie afin d'étudier le mécanisme d'action biologique de nos analogues cardioprotecteurs.

5.2. Les sondes de photo-affinité en chimie médicinale

Tout d'abord, avant de discuter des différents types de sonde et de leur mécanisme de photo-activation, il est nécessaire de présenter le principe général derrière l'utilisation des sondes de photo-affinité en chimie médicinale (Figure 15). Cette méthode implique d'abord la liaison de la sonde avec le composé bioactif pour lequel on désire étudier le mécanisme d'action biologique. Cette sonde contient un groupement photo-réactif ainsi qu'une étiquette qui est un

fluorophore ou un isotope radioactif dans la majorité des cas. Le composé bioactif lié avec la sonde est ensuite introduit dans le milieu cellulaire afin qu'il se lie de façon réversible au site actif de la cible protéique d'intérêt. Par la suite, une irradiation avec une lumière à une longueur d'onde précise permet au groupement photo-réactif de générer une espèce intermédiaire. Celle-ci réagit rapidement en formant un lien covalent avec le composé le plus proche, ce dernier étant idéalement la protéine cible. Pour continuer, une migration sur gel permet de séparer et d'isoler les protéines liées aux sondes de photo-affinité du reste du protéome cellulaire, et ce, grâce à l'étiquette fluorescente ou radioactive qui permet de les localiser facilement. Finalement, un séquençage des protéines isolées par spectrométrie de masse permet d'identifier la cible protéique d'intérêt, et par conséquent, d'améliorer l'activité biologique du composé thérapeutique en connaissant la structure du site actif auquel il se lie.^{122a,122d,122f}

Figure 15. Principe général des sondes de photo-affinité^{122f}

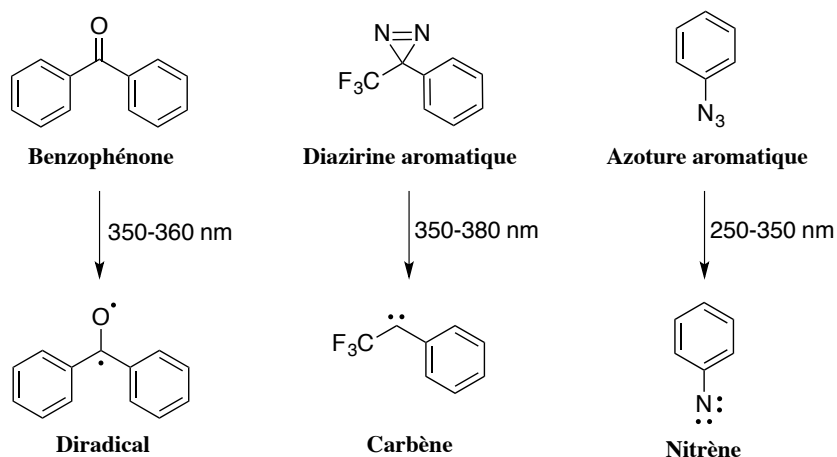


5.2.1. Groupements photo-réactifs

Un des éléments clés des sondes de photo-affinité est le groupement photo-réactif. Celui-ci, comme son nom l'indique, doit avoir la capacité d'être activé par une irradiation à des

longueurs d'onde précises. Toutefois, même si ces dernières doivent permettre de générer efficacement des espèces réactives, elles ne doivent pas être dommageables pour les cellules et leurs composantes biologiques, telles que les protéines. Il existe trois principaux types de groupement photo-réactif : les benzophénones ainsi que les diazirines et azotures aromatiques (Schéma 48). Sous activation à des longueurs d'onde spécifiques, ces groupements forment respectivement des intermédiaires de types diradical, carbène et nitrène. Selon différents mécanismes connus, ces espèces réactives vont rapidement former des liaisons covalentes avec les protéines d'intérêt, permettant ainsi d'avoir des liens non réversibles avec la cible thérapeutique afin de pouvoir l'isoler et l'analyser.^{122a,122f}

Schéma 48. Principaux groupements photo-activables^{122f}



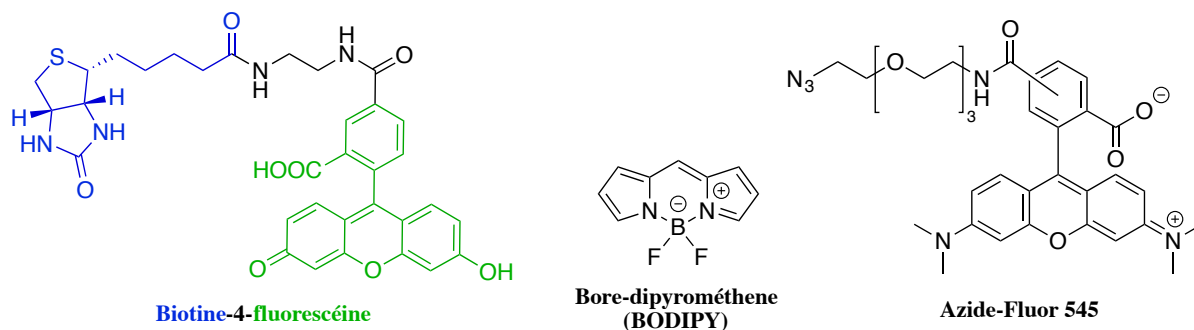
5.2.2. Étiquettes d'identification

Dans le but de faciliter l'isolation des biomolécules liées avec les sondes de photo-affinité, ces dernières contiennent une étiquette d'identification. Les isotopes radioactifs, tels que ^{125}I et ^3H , sont des exemples d'étiquettes pouvant être utilisées. Ces isotopes ont l'avantage d'apporter très peu de modifications à la structure de la sonde et du composé bioactif.

Également, leur détection se fait de façon efficace avec des méthodes hautement sensibles. Cependant, les étiquettes radioactives ne permettent pas d'identifier précisément la structure des protéines isolées du protéome. En effet, l'identification se fait seulement par l'observation du gel sur lequel la migration des protéines est effectuée lors de l'analyse. Ainsi, cette méthode permet plutôt de valider une interaction entre un composé thérapeutique et une cible biologique déjà caractérisée auparavant. De plus, la dégradation rapide des étiquettes radioactives causée par leur faible temps de demi-vie ainsi que les précautions nécessaires à leur manipulation sont des désavantages à prendre en compte avec ce type d'étiquette.^{122f}

La deuxième classe d'étiquettes d'identification qui sont largement utilisées sont les fluorophores (Figure 16). La présence de ces derniers sur les sondes de photo-affinité permet la localisation et l'identification efficaces de différentes protéines d'intérêt dues à la fluorescence qu'ils émettent. De plus, l'ajout de la biotine sur certains de ces fluorophores permet d'isoler plus facilement les protéines photo-étiquetées du reste du protéome cellulaire en utilisant la chromatographie par affinité avec l'avidine, soit une protéine qui interagit fortement avec la biotine. Cette étape permet d'éliminer la majorité des biomolécules non désirées, ce qui augmente l'efficacité de la séparation protéique sur gel subséquente. La biotine-4-fluorescéine présentée à la Figure 16 est un exemple de fluorophore (fluorescéine) couplé avec la biotine.^{122f}

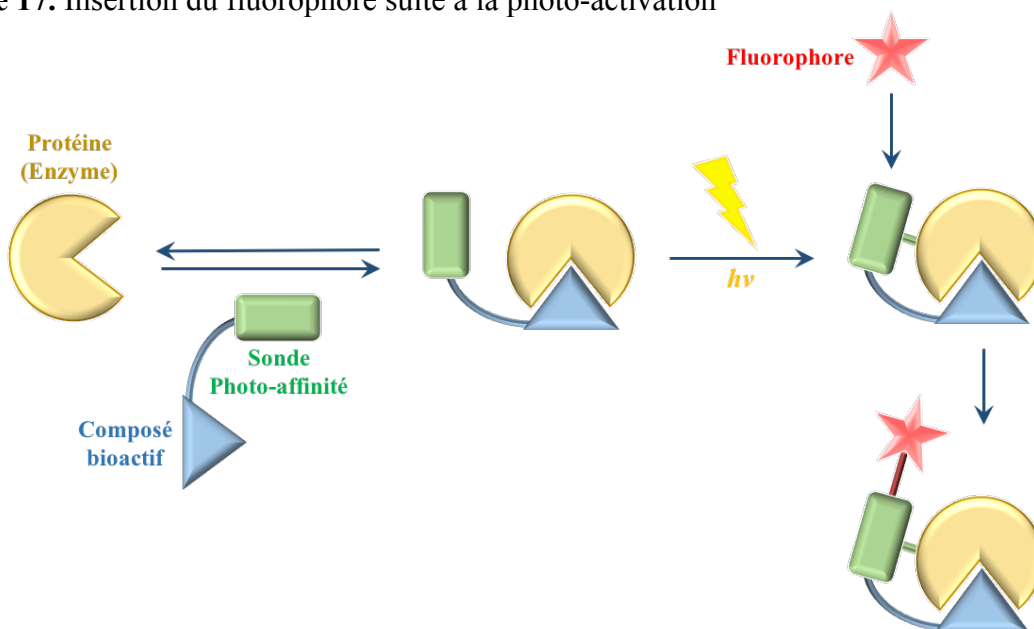
Figure 16. Exemples de fluorophores utilisés sur les sondes de photo-affinité



5.2.3. Méthode impliquant l'insertion du fluorophore suite à la photo-activation

Idéalement, les sondes de photo-affinité doivent avoir la capacité de pénétrer à l'intérieur des cellules, c'est-à-dire de pouvoir traverser la bicouche lipidique. Les sondes qui possèdent cette caractéristique sont grandement utiles puisqu'elles permettent d'effectuer des études biologiques avec des cellules vivantes. Toutefois, bien que la majorité des fluorophores sont hydrophobes et possèdent la capacité de pénétrer la membrane cellulaire, les sondes de photo-affinité dans leur ensemble ne possèdent généralement pas cette capacité en raison de leur taille. Par conséquent, une stratégie permettant d'éliminer ce problème serait d'ajouter l'étiquette d'identification (fluorophore) sur la sonde suite à la liaison de celle-ci avec la cible d'intérêt (Figure 17).^{122b,122f}

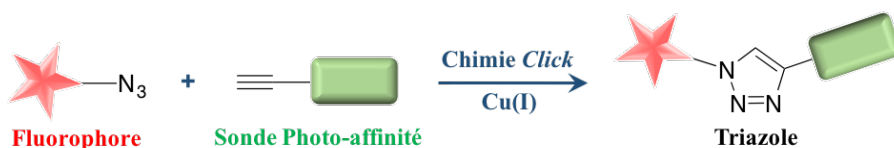
Figure 17. Insertion du fluorophore suite à la photo-activation



Ainsi, le groupement photo-réactif seul est lié avec le composé bioactif et ce complexe possède la capacité d'entrer à l'intérieur des cellules, et suite à une irradiation, de se lier de façon covalente à la cible protéique. Ensuite, après avoir procédé à une lyse cellulaire chimique, soit

la désintégration de la bicouche lipidique, il est désormais possible de lier le fluorophore avec la sonde afin de pouvoir isoler et identifier la protéine d'intérêt. Une méthode efficace permettant cette liaison est l'implication d'une réaction *Click* bien connue, soit la cycloaddition entre un azoture et un alcyne terminal (Schéma 49). Par conséquent, en ajoutant un catalyseur de cuivre(I) au lysat cellulaire, un alcyne terminal préalablement greffé sur la sonde va pouvoir réagir avec un azoture présent sur le fluorophore par une réaction de cycloaddition *Click* formant un triazole.^{122f} Ainsi, cette addition des fluorophores sur les protéines photo-étiquetées permet de rendre celles-ci détectables afin de les séquencer.

Schéma 49. Utilisation de la chimie *Click* afin de lier le fluorophore avec la sonde

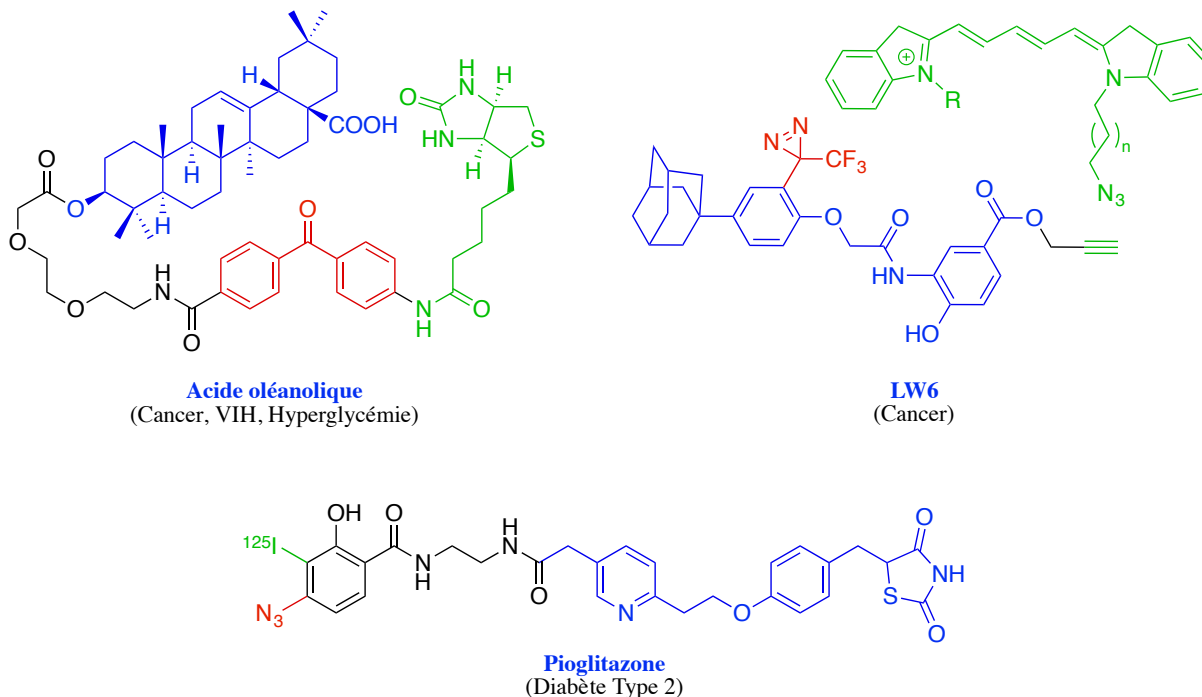


5.2.4. Exemples de sondes de photo-affinité liées à des composés bioactifs

Plusieurs travaux dans la littérature ont exploité l'utilisation de sondes de photo-affinité afin d'étudier et d'identifier avec succès les cibles biologiques de différents composés thérapeutiques (Figure 18).^{122d} En effet, Zhang *et al.*¹²³ ont récemment rapporté une utilisation efficace de la photo-affinité afin d'identifier les cibles protéiques de l'acide oléanolique, soit un composé possédant des activités biologiques au niveau du cancer, du VIH et de l'hyperglycémie.¹²⁴ Pour y arriver, ces chercheurs ont greffé avec succès une sonde de photo-affinité sur l'acide oléanolique suite à des études de la relation structure-activité (*SAR*). Cette sonde contient une benzophénone en tant que groupement photo-réactif et la biotine a été utilisée comme étiquette d'identification. Un autre exemple a été souligné par Lee *et al.*¹²⁵ qui ont

développé un analogue de photo-affinité de l'agent anticancéreux LW6 afin de permettre d'identifier efficacement l'enzyme qui agit en tant que cible biologique. Leur stratégie emploie d'abord une fonction diazirine pour la liaison de la sonde avec l'enzyme par photo-activation, pour ensuite lier une étiquette fluorescente comportant un azoture avec l'alcyne terminal présent sur la sonde en utilisant la chimie *Click*. Finalement, Colca *et al.*¹²⁶ ont démontré que l'utilisation d'un isotope radioactif peut également s'avérer être un choix efficace comme étiquette d'identification. En effet, leur analogue de la pioglitazone contient l'isotope ¹²⁵I et un azoture comme fonction photo-réactive. Leurs études ont permis de confirmer leurs hypothèses sur l'implication de différentes protéines connues dans le mécanisme d'action de leur analogue en lien avec le traitement du diabète de type 2.¹²⁷

Figure 18. Exemples de sondes de photo-affinité liées à des composés bioactifs



Légende - Bleu : Composé bioactif; Rouge : Groupement photo-réactif; Vert : Étiquette

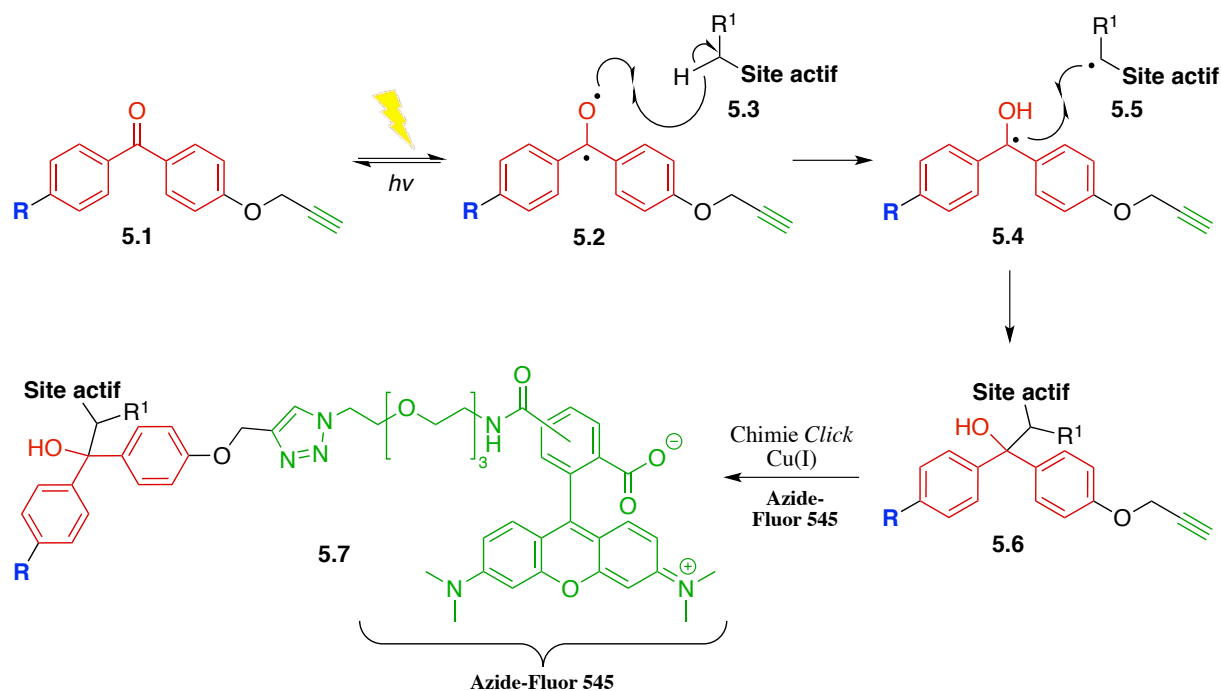
5.3. Application du principe de la photo-affinité sur nos analogues cardioprotecteurs

Au cours de la dernière décennie, les avancées dans le domaine de la photo-affinité ainsi que les multiples exemples de son utilisation fructueuse dans la littérature nous ont mené à l'application de cette stratégie dans le but d'isoler et d'identifier les cibles protéiques de nos analogues cardioprotecteurs. Afin d'atteindre cet objectif, nous avons opté pour des sondes de type benzophénone puisqu'elles ont largement été utilisées depuis leur introduction dans le domaine de la photo-affinité, et ce, dû à plusieurs avantages, tels que leur stabilité chimique à la lumière ambiante et la connaissance accrue de leur mécanisme de photo-activation.¹²⁸

Avant de discuter de la synthèse des sondes et de leur liaison avec nos analogues cardioprotecteurs, il est important de mentionner le mécanisme qui sera impliqué lors de nos études biologiques par photo-affinité (Schéma 50). Tout d'abord, une fois notre composé bioactif lié avec une sonde de type benzophénone, le complexe formé (**5.1**) sera introduit en milieu cellulaire afin de permettre une interaction réversible avec le site actif des protéines d'intérêt. Suite à une irradiation avec des longueurs d'onde entre 350 et 360 nm, le biradical cétyle **5.2** pourra être généré. Le principe photo-chimique derrière la formation du biradical provient d'une absorption d'énergie sous forme de photons par la benzophénone, ce qui mène au transfert d'un électron non liant de l'oxygène du carbonyle vers l'orbitale π^* de celui-ci. Puisque l'oxygène du cétyle est désormais pauvre en électron, l'état excité de type triplet qui a été formé peut se lier avec un hydrogène avoisinant (**5.3**). Cependant, l'excitation de la benzophénone est réversible, donc si l'abstraction d'un hydrogène ne se produit pas pendant la durée de vie de l'état excité, la benzophénone peut retourner à l'état fondamental et celui-ci peut ensuite se ré-exciter. L'hydrogène (**5.3**) avec lequel l'état excité réagit peut être aliphatique ou

en position α d'un hydroxyle ou d'une amine. Dans tous les cas, l'abstraction d'un hydrogène sur la protéine cible va mener à la formation du radical **5.5** et du composé **5.4**. Ce radical présent sur la cible biologique (**5.5**) va ainsi réagir avec le radical sur la sonde (**5.4**) afin de former un lien C-C covalent menant à l'obtention de la protéine photo-étiquetée **5.6**.^{122a} Finalement, dans le but d'isoler et d'analyser celle-ci, le fluorophore commercial Azide-Fluor 545 comportant un azoture sera lié à l'alcyne terminal greffé sur la sonde (**5.6**) par une réaction *Click* de cycloaddition. Ainsi, le complexe fluorescent **5.7** obtenu pourra être séparé du reste du protéome par migration sur gel. Les protéines isolées pourront ensuite être identifiées par spectrométrie de masse, ce qui, par conséquent, nous permettra de déterminer le mécanisme d'action biologique de nos analogues cardioprotecteurs.

Schéma 50. Mécanisme de notre stratégie impliquant des benzophénones^{122a}

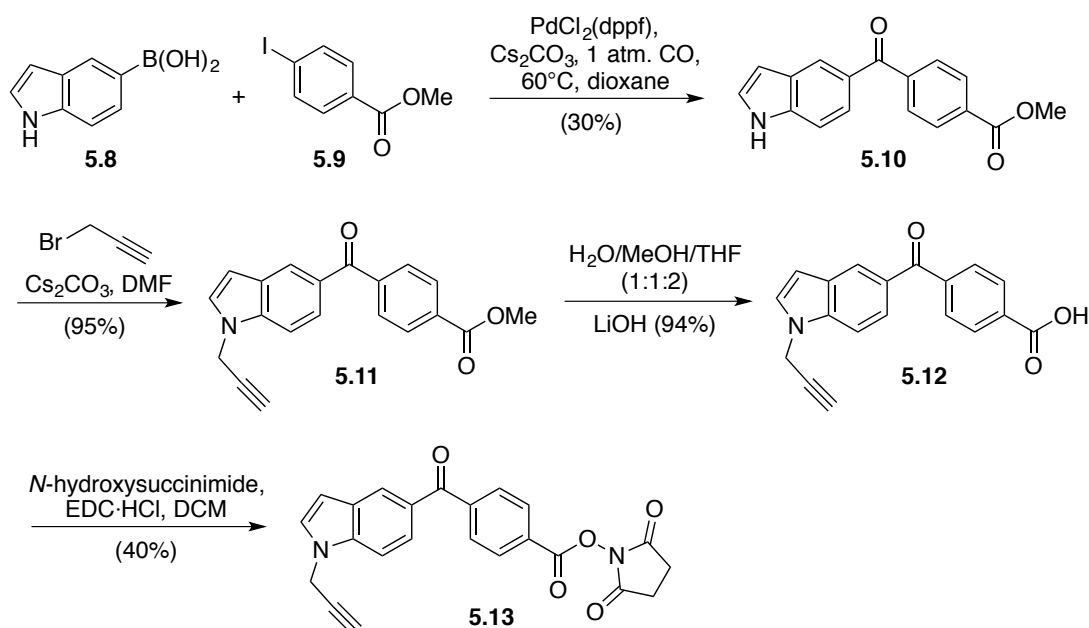


Légende - Bleu (R) : Composé bioactif; Rouge : Groupement photo-réactif; Vert : Étiquette

5.3.1. Synthèse des sondes de type benzophénone

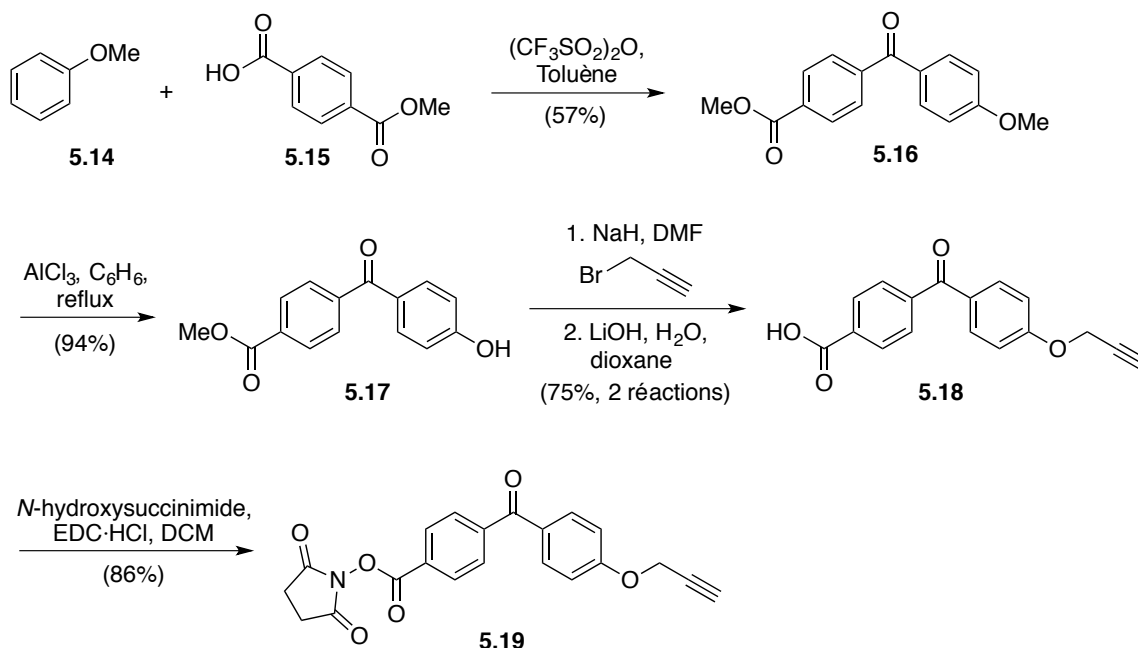
En se basant sur les travaux récents de Cravatt *et al.*,^{128b} il a été possible de synthétiser la première sonde de photo-affinité de type benzophénone (Schéma 51). La première étape de cette synthèse est un couplage de Suzuki entre l'acide boronique **5.8** et l'iodure aromatique **5.9** en présence de carbonate de césium (Cs_2CO_3) et du catalyseur $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$. Cependant, ce couplage de Suzuki est particulier puisqu'il est fait sous atmosphère de monoxyde de carbone (CO) afin d'insérer le carbonyle qui permet la formation du benzoyl-indole **5.10**. Un rendement faible de 30% est obtenu pour ce couplage puisque le maintien d'une pression élevée et constante de CO lors de la réaction s'est avéré difficile. L'amine sur le composé **5.10** peut ensuite réagir avec le bromure de propargyle en condition basique afin de générer l'intermédiaire **5.11**. Finalement, l'hydrolyse de l'ester méthylé permet d'obtenir l'acide carboxylique **5.12** qui réagit ensuite avec la *N*-hydroxysuccinimide en présence de EDC·HCl en tant qu'activateur du carboxyle. La sonde **5.13** de type benzophénone est ainsi obtenue.

Schéma 51. Synthèse de la première sonde



Dans le but de pouvoir étudier la variation de l'activité biologique de nos analogues en fonction de la sonde utilisée, une deuxième sonde de photo-affinité de type benzophénone a été synthétisée (Schéma 52). La première étape consiste en une réaction de Friedel-Crafts entre l'anisole (**5.14**) et l'acide carboxylique aromatique **5.15** en utilisant les conditions développées dans les travaux de Wilkinson¹²⁹ afin de former la benzophénone **5.16**. L'éther méthylé peut ensuite être déprotégé en présence de chlorure d'aluminium(III) afin de générer l'hydroxyle aromatique **5.17**. Celui-ci est déprotoné suite à l'ajout de NaH afin de pouvoir réagir avec le bromure de propargyle. Par la suite, une saponification de l'ester méthylé permet de former le carboxyle **5.18**.¹³⁰ L'addition de la *N*-hydroxysuccinimide sur ce dernier en présence de EDC·HCl mène finalement à la formation de la sonde **5.19**.

Schéma 52. Synthèse de la deuxième sonde

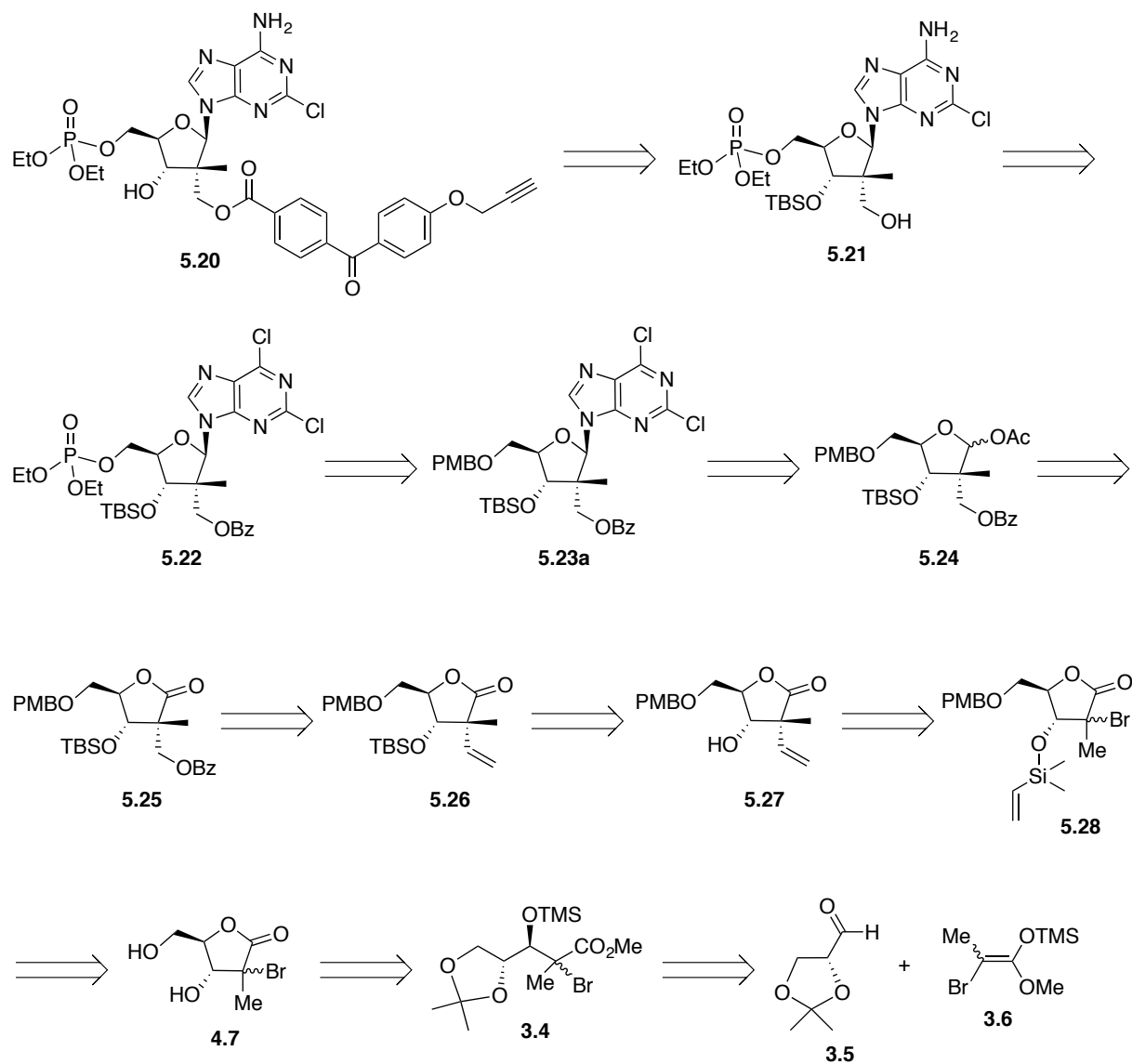


5.3.2. Synthèse des analogues comportant les sondes de photo-affinité

Suite aux observations décrites à la section 4.6 en lien avec les résultats biologiques préliminaires obtenus pour l'analogue 2'-benzylé **4.34**, nous avons supposé que l'ajout des sondes de photo-affinité en position C-2' permettrait d'étudier le mécanisme d'action de nos agents cardioprotecteurs sans toutefois diminuer l'activité biologique observée. Plusieurs conditions ont donc été essayées dans le but d'insérer directement les sondes de type benzophénone en position C-2' sur notre analogue cardioprotecteur **1.5** (**LCB-2122**). Malheureusement, aucun résultat concluant n'a été obtenu à ce niveau ainsi qu'avec les autres essais effectués afin d'introduire les sondes plus tôt dans la synthèse. Par conséquent, une nouvelle voie de synthèse a dû être développée afin de pouvoir insérer sélectivement les sondes de type benzophénone en position C-2'.

La rétrosynthèse du composé **5.20** présentée au Schéma 53 illustre les étapes réactionnelles principales afin de synthétiser les analogues comportant une sonde de photo-affinité. Tout d'abord, l'intermédiaire **5.21** permettant d'introduire sélectivement les sondes en position C-2' provient du composé **5.23a** qui est obtenu suite à l'introduction de l'adénine modifiée par *N*-glycosylation sur le furanoside fonctionnalisé **5.24**. Ce dernier, possédant des groupements protecteurs orthogonaux en C-2', C-3' et C-5', est obtenu suite à plusieurs modifications effectuées sur l'intermédiaire **5.27** qui est issu de la réaction de formation du centre quaternaire par voie radicalaire à partir du précurseur cyclique **5.28**. Celui-ci provient de la lactone **4.7** qui est générée suite à la cyclisation de l'intermédiaire acyclique **3.4** qui est quant à lui formé par une réaction d'aldolisation de Mukaiyama entre l'aldéhyde **3.5** et l'éther d'énol silylé **3.6**.

Schéma 53. Rétrosynthèse de la deuxième voie de synthèse développée

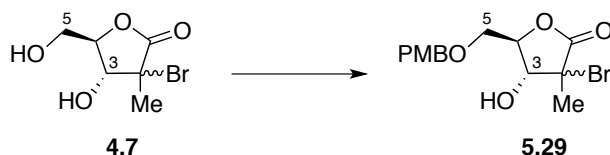


5.3.2.1. Formation du précurseur cyclique pour la réaction radicalaire

Suite à la formation la lactone **4.7**, dont la synthèse a été expliquée précédemment dans cet ouvrage (voir section 4.2), plusieurs conditions ont été essayées en parallèle dans le but de protéger sélectivement l'hydroxyle en C-5 avec un *para*-méthoxybenzyle (PMB) pour obtenir le composé **5.29** (Tableau 9). Tout d'abord, une base forte a été utilisée en quantité limitante

afin de former sélectivement l'alkoxyde primaire en C-5 pour que celui-ci puisse réagir par la suite avec le PMBCl (Entrée 1). Cependant, ces conditions ont plutôt mené à un mélange de produits mono- et di-protégés en C-3 et C-5 avec une décomposition partielle du substrat **4.7**. Une activation impliquant une protection temporaire des hydroxyles en C-3 et C-5 par la formation d'un acétate d'étain en présence d'oxyde de dibutylétain (Bu_2SnO) a également été expérimentée, sans toutefois mener au produit final désiré **5.29** (Entrée 2). Aussi, l'utilisation du carbonate d'argent (Ag_2CO_3) a été tentée afin d'augmenter la réactivité du PMBCl lors de l'attaque par l'alcool en C-5, et ce, à température ambiante et en chauffant à 60 °C (Entrées 3 et 4). Par contre, ces conditions n'ont pas été concluantes et ne semblent pas être compatibles avec le substrat de départ **4.7** dû à la présence du bromure qui peut interagir avec le carbonate d'argent.

Tableau 9. Insertion sélective du groupement PMB en position C-5

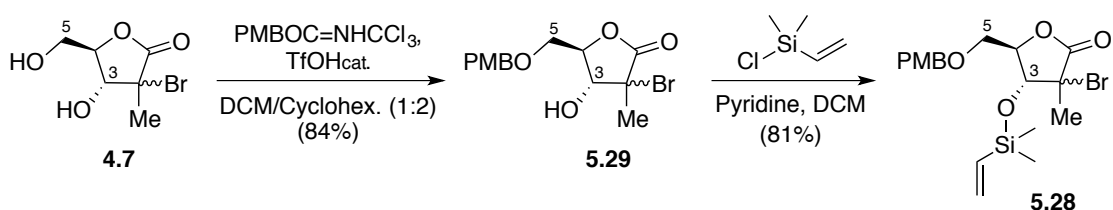


Entrée	Réactifs	Source de PMB	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Rend. ^a (%)
1	NaH	PMBCl	DMF	0	20	Trace ^b
2	Bu_2SnO , TBAI	PMBCl	Toluène	90	20	— ^c
3	Ag_2CO_3	PMBCl	Toluène	25	16	Trace ^d
4	Ag_2CO_3	PMBCl	Toluène	60	16	Trace ^b
5	$\text{TfOH}_{\text{cat.}}$	$\text{PMBOC}=\text{NHCCl}_3$	DCM/Cyclohex./ DMF	25	16	84

^a Rendement des produits isolés. ^b Mélange de produits protégés en C-3 et C-5 avec des produits de décomposition. ^c Décomposition. ^d Produits de décomposition observés majoritairement.

Finalement, l'emploi du $\text{PMBOC}=\text{NHCCl}_3$ en tant que source de PMB avec une quantité catalytique de TfOH a pour sa part mené à la formation sélective du produit désiré **5.29** avec un rendement de 84% à température ambiante (Entrée 5, Tableau 9). Une fois le composé **5.29** obtenu avec succès à partir du diol **4.7**, l'addition du groupement silylé comportant un vinyle peut se faire sur l'hydroxyle libre en position C-3 afin de générer le précurseur **5.28** pour la réaction de transfert radicalaire intramoléculaire (Schéma 54).

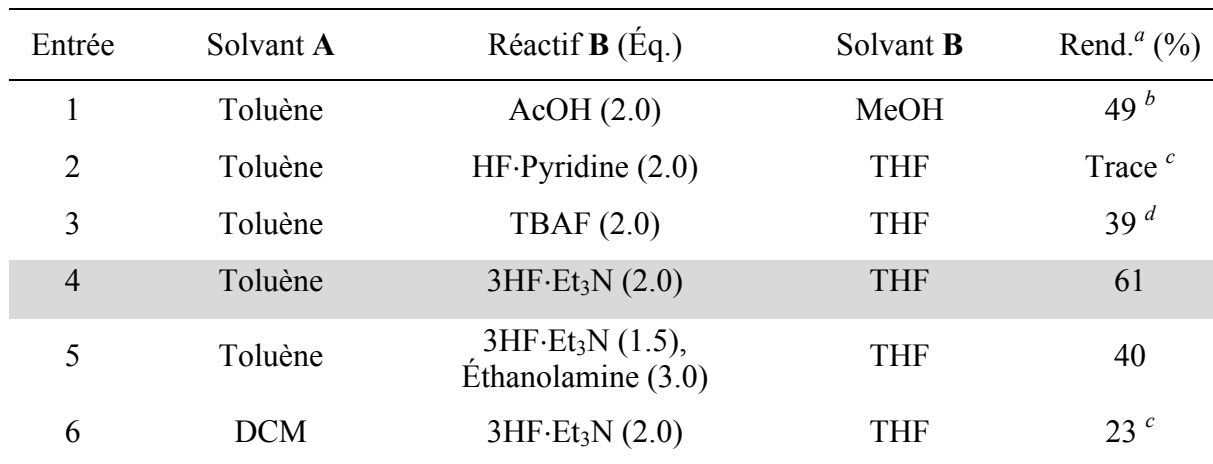
Schéma 54. Synthèse du précurseur cyclique pour la réaction radicalaire



5.3.2.2. Formation du centre quaternaire carboné par voie radicalaire

La réaction de formation du centre quaternaire carboné par transfert radicalaire intramoléculaire d'un groupement vinyle, ainsi que son mécanisme, ont préalablement été expliqués dans ce mémoire (voir Schéma 39, section 4.2.4). En revanche, les conditions réactionnelles utilisées afin d'effectuer cette réaction à partir du précurseur **5.28** ont dû être optimisées afin d'obtenir le composé **5.27** avec le groupement PMB en C-5 (Tableau 10). En effet, les conditions impliquant l'acide acétique (AcOH) qui ont été employées précédemment dans cet ouvrage ont mené à un rendement de 49% pour la formation du composé **5.27** et une déprotection partielle du PMB a été observée (Entrée 1). Cela suggère que le PMB pourrait être sensible aux conditions acides. Dans l'optique d'améliorer ce rendement, différentes conditions de parachèvement (β -élimination et clivage du groupement silylé) ont été testées pour la

Tableau 10. Transfert radicalaire intramoléculaire en présence d'un PMB en position C-5



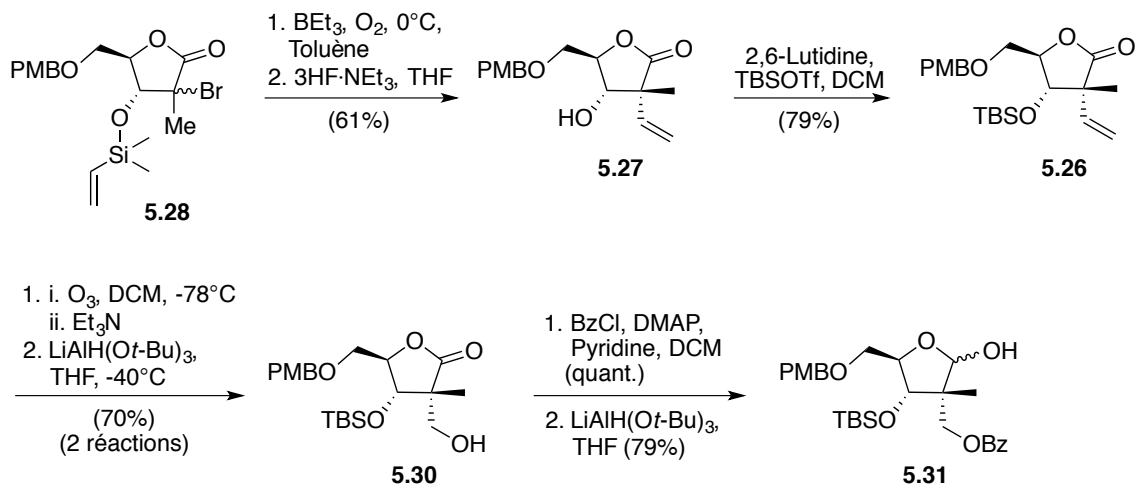
97

Malgré les optimisations qui ont été tentées au niveau du parachèvement, les différents résultats observés au Tableau 10 laissent supposer que la présence du groupement PMB serait problématique lors du transfert radicalaire intramoléculaire. En effet, la majorité des mécanismes de déprotection d'un groupement PMB implique la formation et le transfert de radicaux libres. Ainsi, les conditions radicalaires utilisées pour la formation du centre quaternaire pourraient mener à la décomposition partielle du précurseur **5.28** possédant un PMB en C-5. Somme toute, le produit 2,3-*syn* **5.27** est généré diastéréosélectivement (>20:1) avec un rendement acceptable de 61%.

5.3.2.3. Synthèse du précurseur fonctionnalisé pour la *N*-glycosylation

Une fois la formation du centre quaternaire complétée, la protection de l'hydroxyle secondaire du composé **5.27** en présence de TBSOTf mène au produit **5.26** (Schéma 55). Ce dernier est soumis aux conditions d'ozonolyse afin d'oxyder l'oléfine terminale et l'utilisation du réducteur $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ permet de former l'alcool primaire **5.30** avec un rendement total de 70% pour ces deux étapes. Pour finir, l'hydroxyle obtenu est protégé par un groupement benzoyle et la lactone est réduite en présence de $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ pour obtenir un mélange d'alcools libres en position anomérique (**5.31**). Les produits **5.31**, désormais fonctionnalisés avec trois groupements protecteurs orthogonaux, peuvent subir une activation de leur position anomérique afin d'effectuer l'addition de la purine par *N*-glycosylation.

Schéma 55. Synthèse du précurseur pour la *N*-glycosylation

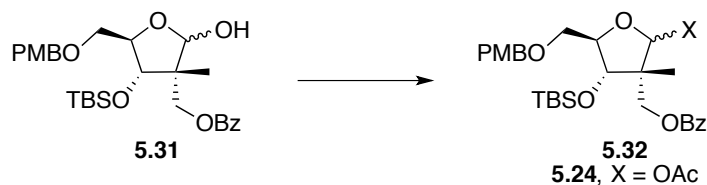


5.3.2.4. *N*-Glycosylation

Afin d'activer la position anomérique du mélange de produits **5.31**, différentes conditions ont été expérimentées (Tableau 11). En premier lieu, l'insertion d'un groupement benzoyle a été tentée puisque c'est cette méthode qui est utilisée dans la première voie de synthèse développée au chapitre précédent. Contrairement à nos attentes, aucun produit final benzoylé n'a été observé après 72 heures de réaction (Entrée 1). Pour remédier à ce problème, l'insertion de différents halogénures en position anomérique a été expérimentée. Toutefois, les essais menés avec le bromure, l'iodure et le chlorure n'ont donné aucun résultat concluant (Entrées 2, 3 et 4). L'addition d'un groupement tosyle (Ts) sur l'hydroxyle anomérique en condition basique a également été essayée afin de former un excellent groupe partant (Entrée 5). Ces conditions ont mené à la formation d'une quantité minime de produit final (**5.32**), en effet, c'est plutôt le produit de départ **5.31** qui est observé majoritairement après 36 heures de réaction. Pour finir, l'activation de la position anomérique a été tentée avec un groupement moins encombrant, soit un acétate (Ac). L'utilisation de l'anhydride acétique (Ac_2O) en

présence d'un grand excès de pyridine a permis d'obtenir le mélange d'anomères **5.24** désirés avec un rendement satisfaisant de 73% (Entrée 6).

Tableau 11. Activation de la position anomérique du furanose fonctionnalisé **5.31**



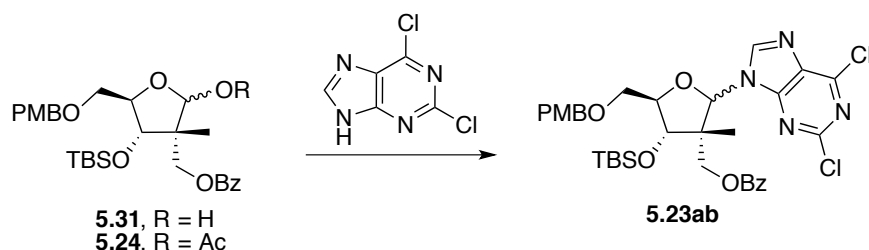
Entrée	X	Réactif	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Rend. ^a (%)
1	OBz	BzCl, DMAP, Pyridine	DCM	25	72	– ^b
2	Br	PPh ₃ , CBr ₄	DCM	25	24	Trace ^b
3	I	PPh ₃ , I ₂ , Imidazole	DCM	25	6	– ^c
4	Cl	Bu ₃ N, Et ₃ N, MsCl (3 éq.)	DCM	25	20	Trace ^b
5	OTs	TsCl, Et ₃ N	DCM	25	36	Trace ^b
6	OAc	Ac ₂ O (4 éq.)	Pyridine	25	24	73

^a Rendement des produits isolés (anomères β et α). ^b Produit de départ observé majoritairement. ^c Produits de décomposition observés majoritairement.

Ayant en mains le furanose **5.24** fonctionnalisé et activé en position anomérique, il est désormais possible d'effectuer une réaction de *N*-glycosylation afin d'introduire l'adénine modifiée (Tableau 12). Cependant, il est important d'expérimenter l'insertion de la base azotée directement sur le composé **5.31** dans le but de confirmer l'importance de l'activation de la position anomérique. L'utilisation de la réaction de Mitsunobu est une méthode connue pour les *N*- et *O*-glycosylations sur des furanoses ou pyranoses possédant un hydroxyle libre en position anomérique.¹³¹ Ainsi, l'application de cette méthode a été tentée pour l'introduction de la 2,6-dichloropurine sur le composé **5.31** (Entrées 1 et 2). Toutefois, cette stratégie s'est avérée

inefficace puisqu'un très faible taux de conversion a été observé pour la formation des anomères **5.23ab**, et ce, à température ambiante et en chauffant à 50 °C. Par conséquent, il est nécessaire d'effectuer la *N*-glycosylation avec la 2,6-dichloropurine à partir du furanose activé **5.24**. Les conditions générales de cette réaction impliquent l'utilisation d'acides de Lewis afin d'augmenter le caractère nucléofuge du groupement en position anomérique (OAc). Les premiers essais menés avec le SnCl₄ et le TMSOTf ont généré majoritairement des produits de dégradation (Entrées 3 et 4). En revanche, une diminution du nombre d'équivalents de TMSOTf a permis d'obtenir les produits de glycosylation désirés avec un rendement de 60% et un ratio d'anomères **5.23a:5.23b** (β : α) de 18:1 (Entrée 5). Le mécanisme de ce type de glycosylation impliquant une assistance anchimérique ainsi que l'explication de la sélectivité en faveur de l'anomère β ont été détaillés précédemment à la section 4.2.6.1 de cet ouvrage.

Tableau 12. *N*-Glycosylation avec la 2,6-dichloropurine



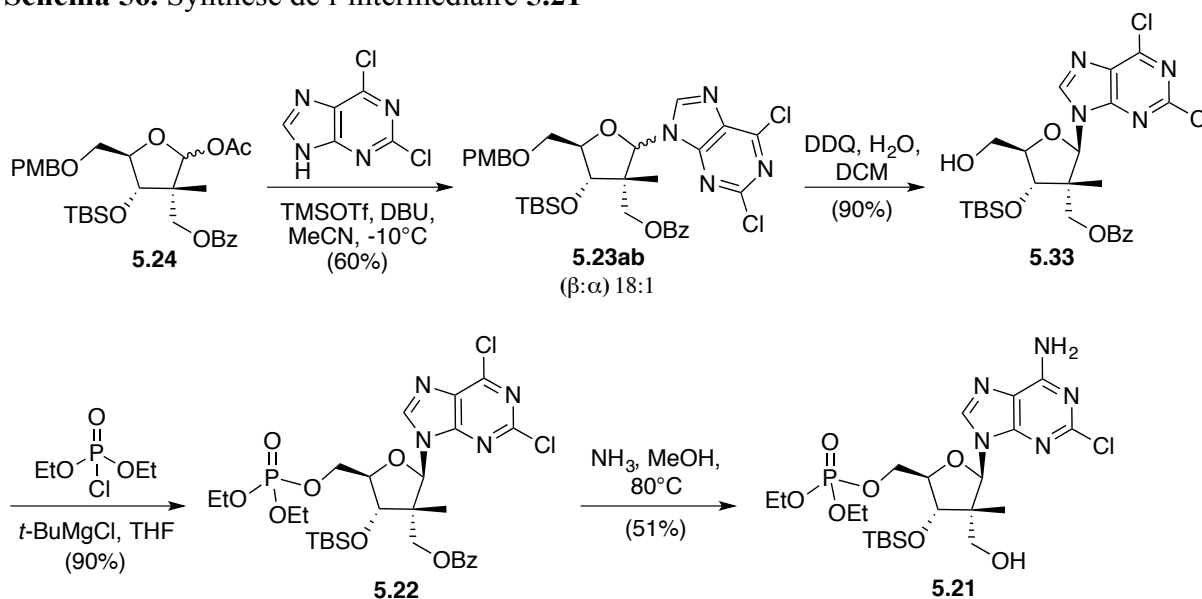
Entrée	R	Réactif	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Rend. ^a (%)
1	H	PPh ₃ , DEAD	THF	25	24	Trace ^b
2	H	PPh ₃ , DEAD	THF	50	8	Trace ^b
3	Ac	SnCl ₄	MeCN	25	5	— ^c
4	Ac	DBU, TMSOTf (4 éq.)	MeCN	−40	6	Trace ^c
5	Ac	DBU, TMSOTf (2 éq.)	MeCN	−10	6	60

^a Rendement des produits isolés (anomères β et α). ^b Produit de départ observé majoritairement. ^c Produits de décomposition observés majoritairement.

5.3.2.5. Suite et fin de la synthèse des analogues de photo-affinité

La purification par chromatographie *flash* du mélange d'anomères **5.23ab** (β : α , 18:1) a permis d'isoler le nucléoside β (**5.23a**). Des analyses RMN ont permis de confirmer la régiosélectivité en N-9 pour la glycosylation et d'identifier l'anomère β (voir section 5.4). Ce dernier a été mis en présence de DDQ afin de cliver le groupement PMB et de générer l'intermédiaire **5.33** avec un rendement de 90% (Schéma 56). Ensuite, l'introduction du monophosphate diéthylé en conditions basiques (*t*-BuMgCl) a mené à la formation du composé **5.22**. Celui-ci a été soumis à des conditions impliquant une forte concentration en ammoniac (NH_3) dans le méthanol. Cette réaction permet de cliver le groupement benzoyle afin de générer l'hydroxyle primaire libre en position C-2', en plus de substituer *in situ* le chlore en position C-6 par l'amine NH_2 . Le nucléoside **5.21** est ainsi obtenu.

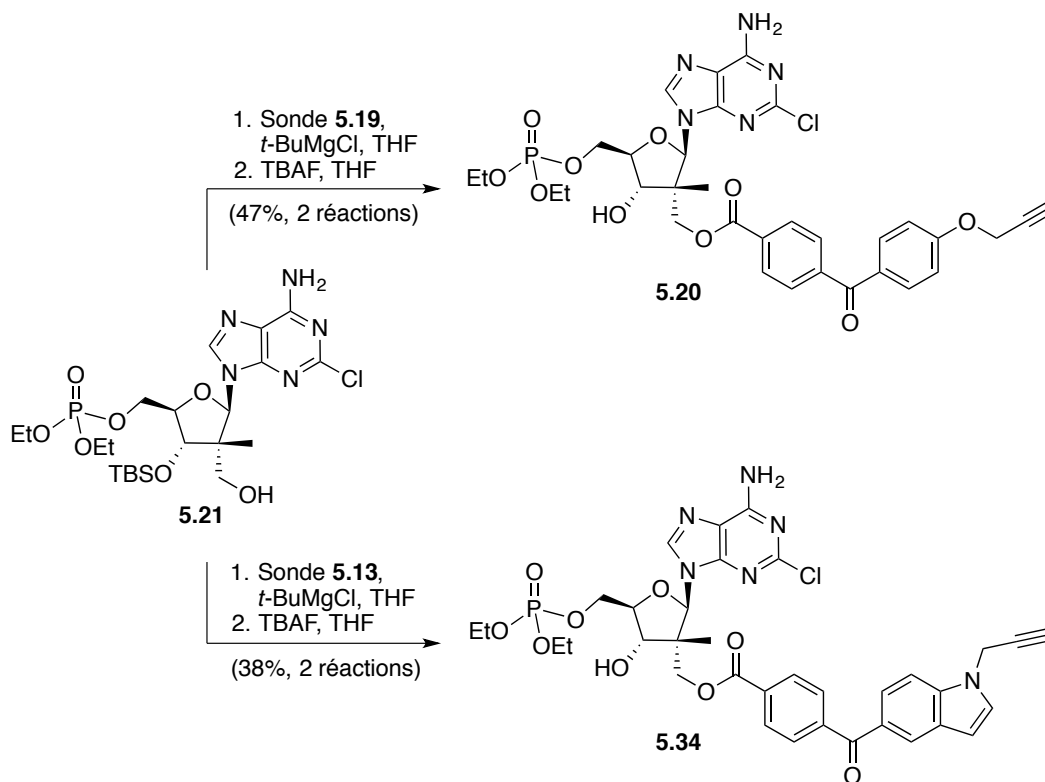
Schéma 56. Synthèse de l'intermédiaire **5.21**



Une fois l'intermédiaire **5.21** obtenu, il est désormais possible de lier les sondes de photo-affinité (**5.13** et **5.19**) avec l'hydroxyle libre en position C-2' (Schéma 57). En effet,

l'utilisation de l'organomagnésien *t*-BuMgCl en tant que base forte permet de générer l'alkoxyde en position C-2' du composé **5.21**. Ce dernier peut ensuite se lier avec les sondes **5.13** et **5.19** par une addition nucléophile sur leur carboxyle activé par la *N*-hydroxysuccinimide. Pour finir, l'utilisation du TBAF permet de générer l'hydroxyle libre en C-3' par un clivage du groupement protecteur TBS. Les analogues **5.20** et **5.34** comportant les sondes de photo-affinité de type benzophénone sont ainsi formés avec des rendements respectifs de 47% et 38% à partir de l'intermédiaire **5.21**. L'encombrement stérique causé par le centre quaternaire carboné lors de l'insertion des sondes pourrait être à l'origine des rendements faibles obtenus.

Schéma 57. Formation des analogues comportant les sondes de photo-affinité

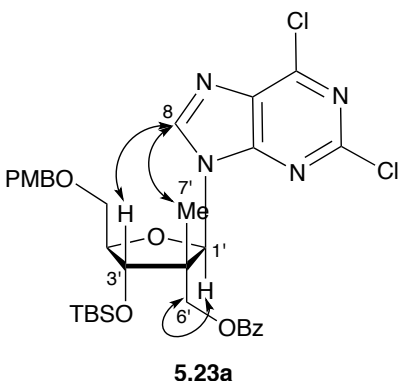


5.4. Preuves de structure

Les analogues de nucléosides **5.20** et **5.34** ont été caractérisés (voir Annexe A) et différentes études RMN ont permis de confirmer la stéréochimie du centre quaternaire carboné en C-2', la configuration β au niveau du carbone anomérique, ainsi que la régiosélectivité en N-9 lors de la formation du lien *N*-glycosidique.

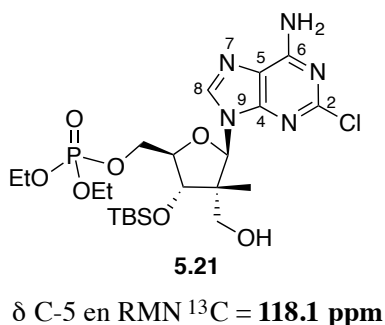
L'analyse du composé **5.23a** via des expériences nOe par RMN ^1H a permis de prouver la configuration β (Figure 19). En effet, une corrélation entre les protons H-3' et H-8 du composé **5.23a** a mené à la confirmation de la stéréochimie β . De plus, d'autres effets nOe ont également été observés entre les protons H-7' (Me) et H-8 ainsi qu'entre les protons H-1' et H-6'. Ces corrélations additionnelles ont permis de prouver que le nucléoside **5.23a** possède la stéréochimie désirée au niveau du centre quaternaire carboné en C-2', en plus d'appuyer la détermination de la configuration β .

Figure 19. Détermination de la configuration du carbone anomérique et du centre quaternaire pour le nucléoside **5.23a** via des expériences nOe par RMN ^1H



La confirmation de l'obtention du régioisomère N-9 lors de la glycosylation a été obtenue par l'analyse du composé **5.21** en RMN ^{13}C (Figure 20). En effet, le déplacement chimique du carbone C-5 de la 2-chloro-6-aminopurine du nucléoside **5.21** est de 118.1 ppm (voir Annexe A). Cette observation nous permet d'éliminer la présence du régioisomère N-7, celui-ci possédant plutôt un déplacement chimique connu d'environ 110 ppm pour le carbone en C-5. L'explication complète et détaillée de cette corrélation entre le déplacement chimique du carbone C-5 de la purine et la régiochimie de la liaison *N*-glycosidique a été présentée précédemment dans cet ouvrage à la section 4.5.^{120,121}

Figure 20. Déplacement chimique (δ) du carbone C-5 de la purine sur le composé **5.21**



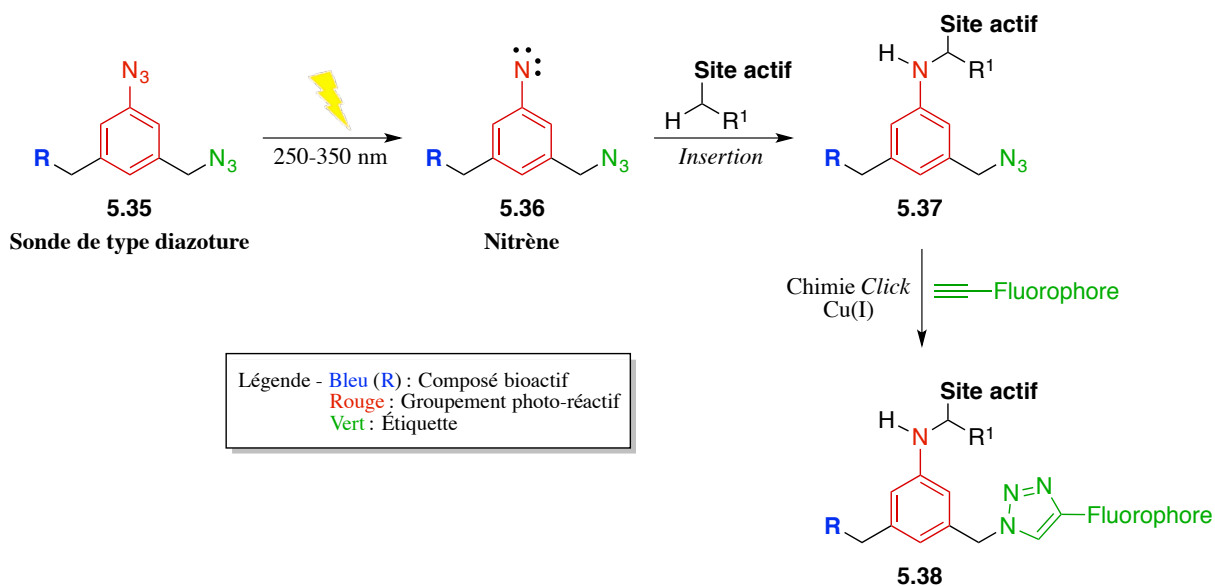
5.5. Conclusion et perspectives

La synthèse de différentes sondes de photo-affinité (**5.13** et **5.19**) ainsi que le développement d'une nouvelle voie de synthèse impliquant l'utilisation de groupements protecteurs orthogonaux ont permis de générer des analogues cardioprotecteurs comportant des sondes de type benzophénone, soit les composés **5.20** et **5.34**. Ces derniers nous permettront d'étudier le mécanisme d'action biologique de nos nucléosides cardioprotecteurs dans le but de développer de nouveaux analogues possédant des activités biologiques supérieures. Il est important de mentionner que ces études par photo-affinité ne permettront pas de prouver

directement le mécanisme d'action de nos analogues. En effet, ces études vont permettre d'isoler la cible protéique à laquelle nos analogues vont se lier, sans toutefois confirmer si celle-ci est à l'origine des effets cardioprotecteurs observés. Ainsi, des études biologiques subséquentes impliquant une surexpression ou une sous-expression de la cible protéique isolée seront nécessaires afin de confirmer le mécanisme d'action de nos analogues. De plus, une variation trop importante des propriétés physico-chimiques de notre analogue biactif **1.5 (LCB-2122)** suite à l'ajout des sondes pourrait engendrer des limitations au niveau des études mécanistiques. Par conséquent, il est primordial de déterminer les activités biologiques de nos analogues de photo-affinité **5.20** et **5.34** avant de commencer les études en lien avec le mécanisme d'action.

Au moment de la rédaction de ce mémoire, les activités biologiques de nos analogues de photo-affinité n'ont pas encore été déterminées. Cependant, dans le cas où ces analogues seraient inactifs ou posséderaient une cytotoxicité trop élevée, une alternative envisageable serait d'utiliser une sonde de photo-affinité de type diazoture (**5.35**) qui apporterait une variation structurelle moins importante (Schéma 58).^{122e,132} Le mécanisme de ces sondes implique un azoture aromatique qui est photo-activé afin de former un nitrène (**5.36**), tandis que l'azoture aliphatique est stable face aux irradiations à différentes longueurs d'onde. Par la suite, le nitrène se lie de façon covalente avec la cible protéique selon différents mécanismes, et pour finir, le complexe **5.37** formé est étiqueté avec l'aide d'un fluorophore par une réaction *Click* de cycloaddition avec l'azoture aliphatique. Ainsi, les cibles protéiques photo-étiquetées **5.38** peuvent être isolées et identifiées.

Schéma 58. Mécanisme impliquant une sonde de photo-affinité de type diazoture^{122e,133}



CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux présentés dans cet ouvrage ont permis la création d'une nouvelle famille d'analogues de nucléosides bioactifs comportant un centre quaternaire carboné en C-2'. Les résultats biologiques préliminaires obtenus pour le composé **1.5 (LCB-2122)** ont démontré que celui-ci possède des propriétés cardioprotectrices prometteuses dans des cas de dégénérescences cardiaques causées par des traitements anticancéreux. Ces résultats encourageants ont mené à la synthèse d'une banque d'analogues afin d'effectuer des études de relation structure-activité. De plus, les résultats biologiques prometteurs soulignent l'importance de cette nouvelle classe d'agents thérapeutiques, puisque à ce jour, aucun traitement efficace n'est connu afin de traiter l'insuffisance cardiaque. Par conséquent, les travaux discutés dans ce mémoire ont mené au dépôt d'une demande de brevet afin de protéger la nouveauté de cette famille d'analogues de nucléosides ainsi que leurs applications médicales potentielles.

Une stratégie impliquant des sondes de photo-affinité a également été conçue avec succès dans le but d'étudier le mécanisme d'action biologique de nos nucléosides cardioprotecteurs, celui-ci étant inconnu à ce jour. En effet, la synthèse de différentes sondes ainsi que le développement d'une nouvelle voie de synthèse impliquant l'utilisation de groupements protecteurs orthogonaux ont permis de générer des analogues cardioprotecteurs comportant des sondes de photo-affinité de type benzophénone. La connaissance du mécanisme d'action et de la structure de la cible biologique d'intérêt pourrait nous permettre de concevoir des nouveaux composés possédant des activités biologiques cardioprotectrices supérieures.

Les différentes voies de synthèse conçues et discutées dans ce mémoire impliquent l'utilisation d'une méthode innovatrice développée par notre laboratoire afin de former stéréosélectivement le centre quaternaire carboné en C-2'. En effet, un transfert radicalaire intramoléculaire d'un groupement vinyle nous permet de synthétiser ce type de centre quaternaire encombré et fonctionnalisable. De plus, afin d'obtenir le précurseur nécessaire pour cette réaction radicalaire, une aldolisation de Mukaiyama diastéréosélective avec un contrôle par le substrat a également été développée. Finalement, il est important de mentionner que la voie de synthèse permettant l'accès au composé **1.5 (LCB-2122)** a été réalisée sur grande échelle sans complication afin d'obtenir plusieurs grammes de ce dernier.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Remarques générales

Toutes les réactions nécessitant des conditions anhydres ont été effectuées sous atmosphère positive d'argon ou d'azote dans des montages préalablement séchés à l'étuve (60 °C) et flambés sous vide. Les réactifs disponibles commercialement ont été utilisés sans purification supplémentaire. Le *n*-butyllithium (2.5 M dans l'hexanes) a été titré avant utilisation (point de virage de l'acide diphenylacétique dans du THF anhydre). La nomenclature des composés a été obtenue à partir du logiciel *ChemDraw Professional* (version 15.0). Tel que permis par le *Guide de présentation des mémoires et des thèses de la Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université de Montréal*, la partie expérimentale a été rédigée en anglais et est présentée à l'Annexe A.

Solvants et chromatographie

Tous les solvants anhydres de grade HPLC ont été préparés par un séchage avant usage sur un tamis moléculaire de 4 Å (1-2 mm) qui a été préalablement activé (24-48 h à 180 °C sous vide). Lorsque mentionné, les produits réactionnels ont été purifiés par chromatographie *flash* sur un gel de silice (porosité : 60 Å, taille : 40-75 µm) avec des solvants de grade HPLC, en utilisant une pression d'air comprimé.¹³⁴ Certains produits ont également été purifiés à l'aide d'un appareil de type *Biotage Isolera One* (version 1.3.6). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques F₂₅₄ de gel de silice 60 sur aluminium (EMD Chemicals Inc.). Après élution, les produits ont d'abord été révélés par lampe UV, puis par une solution aqueuse de molybdate d'ammonium ou de permanganate de potassium.

Instrumentation

Les spectres de résonnance magnétique nucléaire de proton (RMN ^1H) et carbone (RMN ^{13}C) ont été enregistrés à l'aide des appareils de type *Varian Unity INOVA* (500 MHz) et *VXR-400S* (400 MHz) en utilisant le pic résiduel de solvant non deutéré comme référence interne. Les déplacements chimiques des signaux sont rapportés en partie par million (δ , ppm), auxquels s'ajoutent les données de multiplicité, de constante de couplage en hertz (J , Hz) et de valeur d'intégration pour les spectres RMN ^1H . La multiplicité a été assignée selon le code suivant : s (singulet), d (doublet), appd (doublet apparent), t (triplet), appt (triplet apparent), appdt (doublet de triplet apparent), q (quadruplet), appq (quadruplet apparent) et m (multiplet). Tous les ratios de produits ont été calculés à partir du spectre RMN ^1H du mélange brut réactionnel.

Les spectres IR ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre à transformée de Fourier (FTIR) de type *ABB Bomen* (série MB) à partir d'un film de produit purifié sur une pastille de NaCl. La position des pics en mode de transmittance sont rapportés en cm^{-1} et ont été corrigés en soustrayant le spectre de la pastille seule.

Les pouvoirs rotatoires $[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ ont été mesurés à température ambiante à l'aide d'un polarimètre *PerkinElmer 343* par la raie D du sodium (589 nm) avec une cellule de 1.0 mL et d'un parcours optique de 9.998 cm. La concentration (en g/100 mL) ainsi que le solvant utilisé sont également rapportés.

Les analyses de masse de basse (MS) et de haute résolution (HRMS) ont été réalisées par la *Plateforme de découvertes en protéomique* à l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM). Les spectres ont été enregistrés sur un appareil *LTQ Orbitrap XL* (Thermo Fisher) avec un mode d'ionisation par électronébulisateur (ESI) couplé à un piège à ions (IT).

Les composés cristallins ont été soumis à des analyses par diffraction de rayons X qui ont été effectuées au *Laboratoire de diffraction de rayons X* à l'Université de Montréal et les structures ont été résolues par Francine Bélanger.

RÉFÉRENCES

1. Rochette, L.; Guenancia, C.; Gudjoncik, A.; Hachet, O.; Zeller, M.; Cottin, Y.; Vergely, C. *Trends Pharmacol. Sci* **2015**, *36*, 326-348.
2. Lipshultz, S. E.; Adams, M. J.; Colan, S. D.; Constine, L. S.; Herman, E. H.; Hsu, D. T.; Hudson, M. M.; Kremer, L. C.; Landy, D. C.; Miller, T. L.; Oeffinger, K. C.; Rosenthal, D. N.; Sable, C. A.; Sallan, S. E.; Singh, G. K.; Steinberger, J.; Cochran, T. R.; Wilkinson, J. D. *Circulation* **2013**, *128*, 1927-1995.
3. (a) Raschi, E.; Vasina, V.; Ursino, M. G.; Boriani, G.; Martoni, A.; De Ponti, F. *Pharmacology & therapeutics* **2010**, *125*, 196-218; (b) Ferri, N.; Siegl, P.; Corsini, A.; Herrmann, J.; Lerman, A.; Benghozi, R. *Pharmacology & therapeutics* **2013**, *138*, 470-484; (c) Bovelli, D.; Plataniotis, G.; Roila, F. *Ann. Oncol.* **2010**, *21*, 277-282.
4. Woodcock, E. A.; Matkovich, S. J. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2005**, *37*, 1746-1751.
5. (a) Zhou, S. Y.; Mamdani, M.; Qanud, K.; Shen, J.-B.; Pappano, A. J.; Kumar, T. S.; Jacobson, K. A.; Hintze, T.; Recchia, F. A.; Liang, B. T. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *333*, 920-928; (b) Zhou, S.; Yang, T.; Jacobson, K. A.; Liang, B. T. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2013**, *61*, 553-559; (c) Ralevic, V. *WIREs Membr. Transp. Signal* **2012**, *1*, 663-674; (d) Yang, R.; Liang, B. T. *Circ. Res.* **2012**, *111*, 397-401; (e) Burnstock, G.; Pelleg, A. *Purinergic Signalling* **2015**, *11*, 1-46; (f) Ralevic, V.; Burnstock, G. *Drug News Perspect.* **2003**, *16*, 133-140.
6. Djerada, Z.; Feliu, C.; Richard, V.; Millart, H. *Pharmacol. Res.* **2016**, (*Article in press*), 14p.
7. Amisten, S.; Melander, O.; Wihlborg, A.-K.; Berglund, G.; Erlinge, D. *Eur. Heart J.* **2006**, *28*, 13-18.
8. (a) Headrick, J. P.; Lasley, R. D. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2009**, *193*, 189-214; (b) Safran, N.; Shneyvays, V.; Balas, N.; Jacobson, K. A.; Nawrath, H.; Shainberg, A. *Mol. Cell Biochem.* **2001**, *217*, 143-152; (c) Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Vita, P.; Petrelli, R.; Lavecchia, A.; Kachler, S.; Klotz, K.-N.; Marabese, I.; Luongo, L.; Maione, S.; Grifantini, M. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2393-2406.
9. (a) Korboukh, I.; Hull-Ryde, E. A.; Rittiner, J. E.; Randhawa, A. S.; Coleman, J.; Fitzpatrick, B. J.; Setola, V.; Janzen, W. P.; Frye, S. V.; Zylka, M. J.; Jin, J. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6467-6477; (b) Peart, J.; Matherne, G. P.; Cerniway, R. J.; Headrick, J. P. *Cardiovasc. Res.* **2001**, *52*, 120-129; (c) Tracey, W. R.; Magee, W. P.; Oleynek, J. J.; Hill, R. J.; Smith, A. H.; Flynn, D. M.; Knight, D. R. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2003**, *285*, 2780-2787.

10. Kumar, T. S.; Yang, T.; Mishra, S.; Cronin, C.; Chakraborty, S.; Shen, J.-B.; Liang, B. T.; Jacobson, K. A. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 902-914.
11. Marquez, V. E.; Hughes, S. H.; Sei, S.; Agbaria, R. *Antiviral Res.* **2006**, *71*, 268-275.
12. Dunn, P. M.; Kim, H. S.; Jacobson, K. A.; Burnstock, G. *Drug Dev. Res.* **2004**, *61*, 227-232.
13. Kolberg, M.; Strand, K. R.; Graff, P.; Andersson, K. K. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1699*, 1-34.
14. Dolezal, T.; Dolezelova, E.; Zurovec, M.; Bryant, P. J. *PLOS Biology* **2005**, *3*, 1213-1224.
15. Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W., *Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level*. John Wiley & Sons; 4th ed.; 2013; p 1013.
16. Jordheim, L. P.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Dumontet, C. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 447-464.
17. Shao, J.; Zhou, B.; Chu, B.; Yen, Y. *Curr. Cancer Drug Targets* **2006**, *6*, 409-431.
18. Bonate, P. L.; Arthaud, L.; Cantrell, W. R.; Stephenson, K.; Secrist III, J. A.; Weitman, S. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 855.
19. Hazra, S.; Sabini, E.; Ort, S.; Konrad, M.; Lavie, A. *Biochemistry* **2009**, *48*, 1256-1263.
20. De Clercq, E.; Holy, A. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 928-940.
21. De Clercq, E. *J. Clin. Virology* **2001**, *22*, 73-89.
22. Cherry, C. L.; Wesselingh, S. L. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 1091-1093.
23. (a) Vorbrüggen, H.; Ruh-Pohlenz, C. *Org. React.* **2000**, *55*, 1-630; (b) Vorbrüggen, H.; Ruh-Pohlenz, C., *Handbook of Nucleoside Synthesis*. John Wiley & Sons: New York, 2001.
24. Wilson, L. J.; Hager, M. W.; El-Kattan, Y. A.; Liotta, D. C. *Synthesis* **1995**, 1465-1479.
25. Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654-3660.
26. Guo, J.; Ye, X. S. *Molecules* **2010**, *15*, 7235-7265.
27. Zhu, X.; Kawatkar, S.; Rao, Y.; Boons, G.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11948-11957.
28. Sugimura, H.; Muramoto, I.; Nakamura, T.; Osumi, K. *Chem. Lett.* **1993**, *22*, 169-172.
29. Hanessian, S.; Condé, J. J.; Lou, B. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5865-5868.

30. Haga, M.; Ness, R. K.; Fletcher, H. G. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 1810-1815.
31. (a) Keller, F.; Sugisaka, N.; Tyrrill, A. R.; Brown, L. H.; Bunker, J. E.; Botvinick, I. J. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3842-3843; (b) Keller, F.; Tyrrill, A. R. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1289-1291.
32. Glaudemans, C. P. J.; Fletcher, H. G. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 3004-3006.
33. Glaudemans, C. P. J.; Fletcher, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2456-2461.
34. Shen, T. Y.; Lewis, H. M.; Ruyle, W. V. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 835-838.
35. Montgomery, J.; Hewson, K. *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 498-504.
36. Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4489-4494.
37. Seela, F.; Winkeler, H. D. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 226-230.
38. Noyori, R.; Hayashi, M. *Chem. Lett.* **1987**, 57-60.
39. Hager, M. W.; Liotta, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5117-5119.
40. Chapdelaine, D.; Cardinal-David, B.; Prévost, M.; Gagnon, M.; Thumin, I.; Guindon, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17242-17245.
41. (a) Das, J. P.; Chechik, H.; Marek, I. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 128-132; (b) Hawner, C.; Alexakis, A. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 7295-7306; (c) Das, J. P.; Marek, I. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 4593-4623; (d) Quasdorf, K. W.; Overman, L. E. *Nature* **2014**, *516*, 181-191; (e) Chen, W.; Zhang, H. *Sci. China Chem.* **2016**, *59*, 1065-1078; (f) Prantz, K.; Mulzer, J. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 485-506; (g) Ling, T.; Rivas, F. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 6729-6777.
42. Fráter, G. *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 2825-2828.
43. Zhou, S.; Jia, Y. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3416-3418.
44. Schrempp, M.; Thiede, S.; Herkommer, D.; Gansauer, A.; Menche, D. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16266-16271.
45. Herrmann, J. L.; Schlessinger, R. H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1973**, 711-712.
46. Breit, B.; Demel, P.; Studte, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3786-3789.
47. Trost, B. M.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2846-2847.
48. Fournier, J.; Lozano, O.; Menozzi, C.; Arseniyadis, S.; Cossy, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1257-1261.

49. (a) Fananas-Mastral, M.; Perez, M.; Bos, P. H.; Rudolph, A.; Harutyunyan, S. R.; Feringa, B. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1922-1925; (b) Reeves, C. M.; Eidamshaus, C.; Kim, J.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6718-6721; (c) Jiang, G.; List, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9471-9474.
50. Mase, N.; Tanaka, F.; Barbas, C. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2420-2423.
51. Manthorpe, J. M.; Gleason, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2091-2092.
52. Burke, E. D.; Gleason, J. L. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 405-407.
53. Marek, I.; Minko, Y.; Pasco, M.; Mejuch, T.; Gilboa, N.; Chechik, H.; Das, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2682-2694.
54. Martin Castro, A. M. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2939-3002.
55. Wang, K.; Bungard, C. J.; Nelson, S. G. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2325-2328.
56. Yoon, T. P.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2911-2912.
57. (a) Bar, G.; Parsons, A. F. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 251-263; (b) Sibi, M. P.; Porter, N. A. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 163-171; (c) Porter, N. A.; Giese, B.; Curran, D. P. *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 296-304; (d) Curran, D. P. *Synthesis* **1988**, 417-439; (e) Ramaiah, M. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3541-3676; (f) Christoffers, J.; Mann, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4591-4597.
58. Guindon, Y.; Yoakim, C.; Lemieux, R.; Boisvert, L.; Delorme, D.; Lavallée, J. F. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2845-2848.
59. Guindon, Y.; Lavallée, J. F.; Boisvert, L.; Chabot, C.; Delorme, D.; Yoakim, C.; Hall, D.; Lemieux, R.; Simoneau, B. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 27-30.
60. (a) Guindon, Y.; Guérin, B.; Chabot, C.; Ogilvie, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12528-12535; (b) Guérin, B.; Chabot, C.; Mackintosh, N.; Ogilvie, W. W.; Guindon, Y. *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 852-867; (c) Renaud, P.; Gerster, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2562-2579.
61. Cardinal-David, B.; Guérin, B.; Guindon, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 776-784.
62. (a) Guindon, Y.; Guérin, B.; Chabot, C.; Mackintosh, N.; Ogilvie, W. W. *Synlett* **1995**, *5*, 449-451; (b) Guindon, Y.; Guérin, B.; Rancourt, J.; Chabot, C.; Mackintosh, N.; Ogilvie, W. W. *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 89-96.
63. (a) Hart, D. J.; Krishnamurthy, R. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4457-4470; (b) Hart, D. J.; Huang, H.-C. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3749-3752; (c) Giese, B.; Bulliard, M.; Zeitz, H.-G. *Synlett* **1991**, 425-427.

64. (a) Durkin, K.; Liotta, D.; Rancourt, J.; Lavallée, J.-F.; Boisvert, L.; Guindon, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4912-4914; (b) Giese, B.; Damm, W.; Wetterich, F.; Zeitz, H. G.; Rancourt, J.; Guindon, Y. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5885-5888.
65. Guindon, Y.; Slassi, A.; Rancourt, J.; Bantle, G.; Bencheqroun, M.; Murtagh, L.; Ghiri, E.; Jung, G. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 288-289.
66. (a) Cardinal-David, B. Création de centres stéréogéniques sur des molécules acycliques par contrôle du substrat: synthèse de centres quaternaires et d'analogues de nucléosides. Thèse de doctorat (Université de Montréal), 2008; (b) Cardinal-David, B.; Brazeau, J.-F.; Katsoulis, I.; Guindon, Y. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1939-1961.
67. Duplessis, M.; Waltz, M.-E.; Bencheqroun, M.; Cardinal-David, B.; Guindon, Y. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3148-3151.
68. Bols, M.; Skrydstrup, T. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1253-1277.
69. (a) Sakaguchi, N.; Hirano, S.; Matsuda, A.; Shuto, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3291-3294; (b) Shuto, S.; Terauchi, M.; Yahiro, Y.; Abe, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4151-4155; (c) Stork, G.; Suk, H. S.; Kim, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7054-7056; (d) Sueda, M.; Ichikawa, S.; Matsuda, A.; Shuto, S. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3465-3475; (e) Terauchi, M.; Yahiro, Y.; Abe, H.; Ichikawa, S.; Tovey, S. C.; Dedos, S. G.; Taylor, C. W.; Potter, B. V. L.; Matsuda, A.; Shuto, S. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 3697-3707.
70. (a) Baldwin, J. E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 734-736; (b) Baldwin, J. E.; Thomas, R. C.; Kruse, L. I.; Silberman, L. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3846-3852; (c) Beckwith, A. L. J.; Easton, C. J.; Serelis, A. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, 482.
71. (a) Wilt, J. W.; Luszyk, J.; Peeran, M.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 281; (b) Saigo, K.; Tateishi, K.; Hiroshi, A.; Saotome, Y. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1572.
72. Barton, T. J.; Revis, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3802.
73. Duplessis, M. Application de réactions radicalaires diastéréosélectives à la synthèse de molécules acycliques polyfonctionnalisées comportant des centres tertiaires et quaternaires. Mémoire de maîtrise (Université de Montréal), 2005.
74. Teruaki, M.; Koichi, N.; Kazuo, B. *Chem. Lett.* **1973**, *2*, 1011-1014.
75. Matsuo, J.; Murakami, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9109-9118.
76. Mahrwald, R. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1095-1120.
77. Noyori, R.; Yokoyama, K.; Sakata, J.; Kuwajima, I.; Nakamura, E.; Shimizu, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1265-1267.

78. Evans, D. A.; Bartroli, J.; Shih, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127-2129.
79. Masamune, S.; Sato, T.; Kim, B. M.; Wollmann, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8279-8281.
80. Paterson, I.; Lister, M. A.; McClure, C. K. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4787-4790.
81. Corey, E. J.; Imwinkelried, R.; Pikul, S.; Xiang, Y. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5493-5495.
82. Reetz, M. T.; Kunisch, F.; Heitmann, P. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4721-4724.
83. (a) Mukaiyama, T.; Kobayashi, S.; Uchiro, H.; Shina, I. *Chem. Lett.* **1990**, 129-132; (b) Kobayashi, S.; Uchiro, H.; Shiina, I.; Mukaiyama, T. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1761-1772.
84. Keck, G. E.; Krishnamurthy, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2363-2364.
85. (a) Krüger, J.; Carreira, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 837-838; (b) Carreira, E. M.; Singer, R. A.; Lee, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8837-8838.
86. Furuta, K.; Maruyama, T.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1041-1042.
87. Corey, E. J.; Cywin, C. L.; Roper, T. D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6907-6910.
88. (a) Evans, D. A.; Murry, J. A.; Kozlowski, M. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5814-5815; (b) Evans, D. A.; MacMillan, D. W. C.; Campos, K. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10859-10860.
89. Chen, C.-T.; Chao, S.-D.; Yen, K.-C.; Chen, C.-H.; Chou, I.-C.; Hon, S.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11341-11342.
90. Gröger, H.; Vogl, E. M.; Shibasaki, M. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1137-1141.
91. Zimmerman, H. E.; Traxler, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1920-1923.
92. Heathcock, C. H.; Davidsen, S. K.; Hug, K. T.; Flippin, L. A. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3027-3037.
93. Denmark, S. E.; Lee, W. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 707-709.
94. Lee, J. M.; Helquist, P.; Wiest, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14973-14981.
95. (a) Deloux, L.; Srebnik, M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 763-784; (b) Wallbaum, S.; Martens, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, *3*, 1475-1504; (c) Furuta, K.; Maruyama, T.; Yamamoto, H. *Synlett* **1991**, 439-440; (d) Parmee, E. R.; Tempkin, O.; Masamune, S.; Abiko, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9365-9366; (e) Sodeoka, N.; Tokunoh, R.; Miyazaki, F.; Hagiwara, E.; Shibasaki, M. *Synlett* **1997**, 463-466; (f) Mikami, K.; Matsukawa, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4077-4078.

96. Sai, M.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7091-7094.
97. (a) Oppolzer, W. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1969-2004; (b) Gennari, C.; Bernardi, A.; Colombo, L.; Scolastico, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5812-5813; (c) Zelle, R. E.; DeNinno, M. P.; Selnick, H. G.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5032-5036; (d) Oppolzer, W.; Blagg, J.; Rodriguez, I.; Walther, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2767-2772.
98. Chérest, M.; Felkin, H.; Prudent, N. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *18*, 2199-2204.
99. Anh, N. T.; Eisenstein, O. N. *New J. Chem* **1977**, *1*, 61-70.
100. Newman, M. S. *J. Chem. Educ.* **1955**, *32*, 344-347.
101. Burgi, H. B.; Dunitz, J. D.; Shefter, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 5065-5067.
102. (a) Cram, D. J.; Elhafez, F. A. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 5828-5835; (b) Reetz, M. T.; Raguse, B.; Seitz, T. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8561-8568.
103. (a) Keck, G. E.; Castellino, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3847-3849; (b) Reetz, M. T. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 462-468.
104. Mengel, A.; Reiser, O. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1191-1223.
105. (a) Cram, D. J.; Kopecky, K. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 2748-2755; (b) Stocker, J. H.; Sidisunthorn, P.; Benjamin, B. M.; Collins, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3913-3918; (c) Cram, D. J.; Wilson, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 1245-1249.
106. Cee, V. J.; Cramer, C. J.; Evans, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2920-2930.
107. (a) Chérest, M.; Felkin, H. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 2205-2208; (b) Anh, N. T.; Eisenstein, O.; Lefour, J.-M.; Dau, M.-E. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 6146-6147.
108. Anh, N. T. *Top. Curr. Chem.* **1980**, *88*, 145-162.
109. (a) Cornforth, J. W.; Cornforth, R. H.; Mathew, K. K. *J. Chem. Soc.* **1959**, 112-127; (b) Evans, D. A.; Siska, S. J.; Cee, V. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1761-1765.
110. Tambutet, G.; Becerril-Jiménez, F.; Dostie, S.; Simard, R.; Prévost, M.; Mochirian, P.; Guindon, Y. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 5698-5701.
111. Schmid, C. R.; Bryant, J. D. *Org. Synth.* **1995**, *72*, 6.
112. (a) Kita, Y.; Yasuda, H.; Tamura, O.; Itoh, F.; Ya, Y. K.; Tamura, Y. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5777-5780; (b) Dong, S.; Parker, G. D.; Tei, T.; Paquette, L. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2429-2431; (c) Paquette, L. A.; Parker, G. D.; Tei, T.; Dong, S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7125-7134.

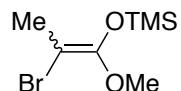
113. (a) Bernardi, A.; Cardani, S.; Scolastico, C.; Villa, R. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 491-502; (b) López-Herrera, F. J.; Valpuesta-Fernández, M.; García-Claros, S. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7165-7174; (c) Su, Z.; Tamm, C. *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1278-1290.
114. Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Marchetti, S.; Trincavelli, L.; Martini, C.; Mazzoni, M. R.; Lucacchini, A.; Grifantini, M. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1708-1715.
115. Zhang, H.-W.; Zhou, L.; Coats, S. J.; McBrayer, T. R.; Tharnish, P. M.; Bondada, L.; Detorio, M.; Amichai, S. A.; Johns, M. D.; Whitaker, T.; Schinazi, R. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6788-6792.
116. Baek, J. Y.; Lee, B.-Y.; Jo, M. G.; Kim, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17705-17713.
117. (a) Cappellacci, L.; Franchetti, P.; Pasqualini, M.; Petrelli, R.; Vita, P.; Lavecchia, A.; Novellino, E.; Costa, B.; Martini, C.; Klotz, K.-N.; Grifantini, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1550-1562; (b) McGuigan, C.; Gilles, A.; Madela, K.; Aljarah, M.; Holl, S.; Jones, S.; Vernachio, J.; Hutchins, J.; Ames, B.; Bryant, K. D.; Gorovits, E.; Ganguly, B.; Hunley, D.; Hall, A.; Kolykhalov, A.; Liu, Y.; Muhammad, J.; Raja, N.; Walters, R.; Wang, J.; Chamberlain, S.; Henson, G. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4949-4957; (c) Donghi, M.; Attenni, B.; Gardelli, C.; Marco, A. D.; Fiore, F.; Giuliano, C.; Laufer, R.; Leone, J. F.; Pucci, V.; Rowley, M.; Narjes, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1392-1395.
118. Amiable, C.; Paoletti, J.; Haouz, A.; Padilla, A.; Labesse, G.; Kaminski, P.-A.; Pochet, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *85*, 418-437.
119. Zhu, X.-F.; Williams, H. J.; Scott, A. I. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2305-2306.
120. (a) Framsky, G.; Gdaniec, Z.; Gdaniec, M.; Boryski, J. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10123-10129; (b) Chenon, M.-T.; Pugmire, R. J.; Grant, D. M.; Panzica, R. P.; Townsend, L. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4627-4636.
121. (a) Garner, P.; Ramakanth, S. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1294-1298; (b) Wang, Z.; Prudhomme, D. R.; Buck, J. R.; Park, M.; Rizzo, C. J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5969-5985; (c) Dong, S.; Paquette, L. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1580-1596; (d) Takahashi, M.; Daidouji, S.; Shiro, M.; Minakawa, N.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4313-4324; (e) Lee, J. A.; Kim, H. O.; Tosh, D. K.; Moon, H. R.; Kim, S.; Jeong, L. S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5081-5083; (f) Paquette, L. A.; Dong, S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5655-5664.
122. (a) Preston, G. W.; Wilson, A. J. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3289-3301; (b) Sinz, A. *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 663-682; (c) Smith, E.; Collins, I. *Future Med. Chem.* **2015**, *7*, 159-183; (d) Sumranjit, J.; Chung, S. J. *Molecules* **2013**, *18*, 10425-10451; (e) Yoshida, S.; Misawa, Y.; Hosoya, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 3991-3995; (f) Smith, E.; Collins, I. *Future Med. Chem.* **2015**, *7*, 159-183.
123. Zhang, L.; Zhang, Y.; Dong, J.; Liu, J.; Zhang, L.; Sun, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1036-1039.

124. Dzubak, P.; Hajduch, M.; Vydra, D. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *22*, 394-411.
125. Lee, K.; Ban, H. S.; Naik, R.; Hong, Y. S.; Son, S.; Kim, B.-K.; Xia, Y.; Song, K. B.; Lee, H.-S.; Won, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10286-10289.
126. Colca, J. R.; McDonald, W. G.; Waldon, D. J.; Leone, J. W.; Lull, J. M.; Bannow, C. A.; Lund, E. T.; Mathews, W. R. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2003**, *286*, E252-E260.
127. Diamant, M.; Heine, R. J. *Drugs* **2003**, *63*, 1373-1405.
128. (a) Hilbold, B.; Perrault, M.; Ehret, C.; Niu, S. L.; Frisch, B.; Pecheur, E. I.; Bourel-Bonnet, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7464-7473; (b) Cisar, J. S.; Cravatt, B. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10385-10388.
129. Wilkinson, M. C. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2232-2235.
130. Bandyopadhyay, S.; Bong, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 751-758.
131. (a) Sugimura, H.; Koizumi, A.; Kiyohara, W. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2003**, *22*, 727-729; (b) Donohoe, T. J.; Flores, A.; Bataille, C. J. R.; Churrua, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6507-6510; (c) Yang, Y.; Zhang, X.; Yu, B. *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 1331-1355.
132. Neelapapu, R.; Holzle, D. L.; Velaparthi, S.; Bai, H.; Brunsteiner, M.; Blond, S. Y.; Petukhov, P. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4350-4364.
133. Voskresenska, V.; Wilson, R. M.; Panov, M.; Tarnovsky, A. N.; Krause, J. A.; Vyas, S.; Winter, A. H.; Hadad, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11535-11547.
134. Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

ANNEXE A : PARTIE EXPÉRIMENTALE ET CARACTÉRISATION

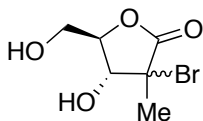
Section expérimentale du Chapitre 4

((2-Bromo-1-methoxyprop-1-en-1-yl)oxy)trimethylsilane (3.6)



A solution of LDA was prepared by the addition of a 2.3 M solution of *n*-BuLi in hexanes (217 mL, 500 mmol) to a solution of *i*-Pr₂NH (84 mL, 600 mmol) in dry THF (700 mL) at -78 °C. After being stirred for 60 minutes at -78 °C, the mixture was treated dropwise with a solution of methyl 2-bromopropionate (57 mL, 500 mmol) over 45 minutes. The reaction mixture was stirred for 45 minutes, treated dropwise with DMI (44 mL, 400 mmol), stirred for 1 minute, then Me₃SiCl (70 mL, 550 mmol) was slowly added. The mixture was slowly warmed to 25 °C, stirred at this temperature for 1 hour, filtered and concentrated. The residue was suspended in hexanes and filtered onto Celite[®]. After concentration, enoxysilanes **3.6** (110 g, 91% yield) were obtained as a pale yellow liquid (mixture of *E* and *Z* isomers, containing ~90% of *O*-silylated material) that was used without further purification. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.61 (s, 3H_E), 3.57 (s, 3H_Z), 2.16 (s, 3H_Z), 2.10 (s, 3H_E), 0.30 (s, 9H_Z), 0.26 (s, 9H_E) ppm. (reported previously in the literature; Guindon *et al.*)¹¹⁰

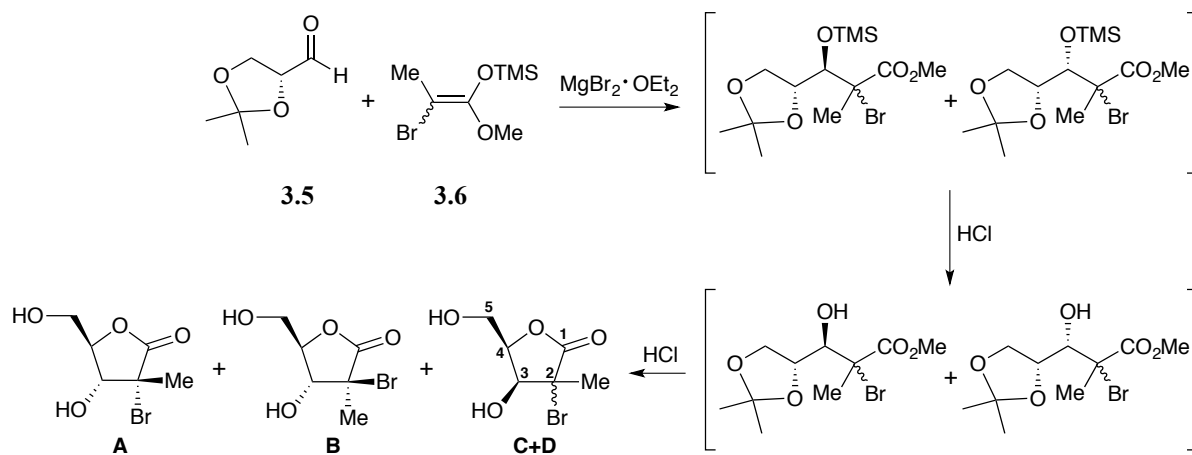
(4*R*,5*R*)-3-Bromo-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (4.7)



To a solution of aldehyde **3.5** (22.0 g, 169 mmol) (reported previously in the literature)¹¹¹ in CH₃CN (330.0 mL, 0.5 M) at 0 °C, MgBr₂·OEt₂ (45.2 g, 169 mmol) and enoxysilanes **3.6** (40.7 mL, 169 mmol) were added. The reaction mixture was stirred for 24 hours, treated with water (300 mL), and the mixture was extracted with EtOAc (1x), dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Co-evaporation with toluene (2x) to remove excess enoxysilanes gave intermediate **3.4** in a 11:1 ratio (3,4-*anti* : 3,4-*syn*) as a yellow oil. The crude mixture was then used as such for next reaction. To a solution of crude aldol adducts **3.4** (50.7 g, 137 mmol) in THF (275 mL) at 0 °C, HCl conc (10 mL, 121.8 mmol) was added dropwise over 20 minutes.

After 50 minutes, the reaction was warmed to 25 °C. After 5 hours, the reaction mixture was concentrated *in vacuo* to give a dark green oil that was filtered through a plug of SiO₂ (200 mL) rinsing with a mixture of CH₂Cl₂/EtOAc (50:50). The resultant dark brown solid was triturated with hexanes (1x), then with Hexanes/EtOAc (95:5) (2x) to give the lactones (**4.7**) as a clear brown solid (19 g, 59% yield over 2 steps). ¹H NMR shows 90% of 3,4-*anti* products (1:1.4 ratio of *anti*-products) and 10% of 3,4-*syn* products. The diastereoselectivity of the Mukaiyama aldol reaction was determined by NMR analysis that was done by Fabiola Becerril-Jiménez and was reported previously in the literature (Guindon *et al.*)¹¹⁰:

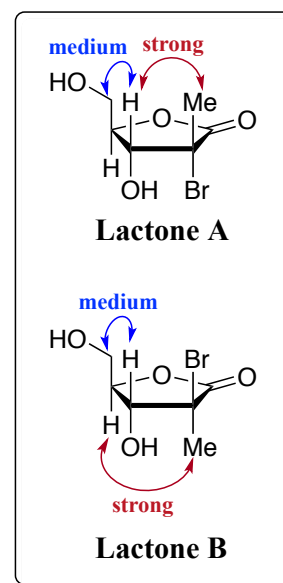
The aldol products obtained from the addition of **3.6** to aldehyde **3.5** provided a mixture of C-3-*O*-silylated products that decomposed on silica gel. To determine the 3,4-relative diastereomeric ratio, non-selective acidic reaction conditions were used to generate and characterize the four lactones (**A**, **B**, **C**, **D**) obtained after *in situ* deprotection of the TMS and acetonide protecting groups.



Conditions leading to lactones B : A : C+D in 2.5 : 5.3 : 2.2 : 1 ratio:

Solid MgBr₂·OEt₂ (2.98 g, 11.52 mmol) was added to a solution of aldehyde **3.5** (500 mg, 3.84 mmol) in dry CH₂Cl₂ (19 mL) at 0 °C. After 10 minutes, neat enoxysilane **3.6** (1.00 mL, 3.84 mmol) was added dropwise via syringe over 1 minute. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 1 hour, quenched at 0 °C by addition of 5 mL of H₂O, diluted with EtOAc, washed with distilled water, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. A solution of

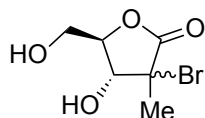
HF·Pyridine (164 μL , 6.55 mmol) was added at 0 $^{\circ}\text{C}$ to the crude product from the previous reaction in THF (7.30 mL). After 3 hours at 0 $^{\circ}\text{C}$, the reaction was allowed to reach 25 $^{\circ}\text{C}$ and stirred additionally for 4 hours. The mixture was diluted with EtOAc, washed with a saturated solution of NaHCO_3 , dried over MgSO_4 and concentrated *in vacuo*. HCl 1 M (67 μL , 0.067 mmol) was added to a solution of the aldol adducts (20 mg, 0.067 mmol) in 135 μL of THF at room temperature. After 6.5 hours, the mixture was diluted with EtOAc, and concentrated *in vacuo*. ^1H NMR of the crude mixture showed a (2.5 : 5.3 : 2.2 : 1) ratio of lactones (**B** : **A** : **C**+**D**). The relative configurations of **A** and **B** were assigned by nOe correlations. This protocol allowed for the ^1H and ^{13}C NMR chemical shifts of the four lactones, as well as the selectivity of the aldol reaction to be determined on mixtures (products **A**, **B**, **C** and **D** were not separated):



Lactone	A (3,4- <i>anti</i>)	B (3,4- <i>anti</i>)	C (3,4- <i>syn</i>)	D (3,4- <i>syn</i>)
H-3 (ppm)	3.82	4.64	4.44	4.28
H-4 (ppm)	4.18	4.24	4.86 - 4.82	4.69 - 4.65
H-5 (ppm)	3.97 & 3.73	3.91 & 3.78	3.87	4.03 - 3.98
H-6 (ppm)	1.86	1.82	1.83	1.91
<i>J</i>3-4 (Hz)	8.4	6.3	3.3	5.9
C-1 (ppm)	174.4	175.7	175.8	175.8
C-2 (ppm)	62.4	61.4	61.03	61.9 (app)
C-3 (ppm)	74.4	78.0	77.3	75.4
C-4 (ppm)	84.3	86.1	83.4	83.5
C-5 (ppm)	59.9	58.8	57.5	61.3 (app)
C-6 (ppm)	24.4	22.3	20.8	26.5

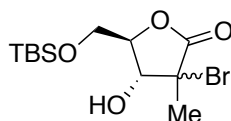
Lactones 3,4-*anti*:

(4*R*,5*R*)-3-Bromo-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (A, B)



Formula: C₆H₉BrO₄; **MW:** 225.03 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3408, 1771, 1642 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 4.64 (d, J = 6.3 Hz, 1H_B), 4.24 (ddd, J = 6.3, 5.0, 3.2 Hz, 1H_B), 4.18 (ddd, J = 8.4, 4.2, 2.1 Hz, 1H_A), 3.97 (dd, J = 13.0, 2.1 Hz, 1H_A), 3.96 - 3.84 (m, 1H_B), 3.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H_A), 3.82 - 3.75 (m, 1H_B), 3.73 (dd, J = 13.0, 4.2 Hz, 1H_A), 1.86 (s, 3H_A), 1.82 (s, 3H_B) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 175.7, 174.4, 86.1, 84.3, 78.0, 74.3, 62.4, 61.4, 59.9, 58.8, 24.4, 22.3 ppm; **HRMS** calcd for: C₆H₁₀BrO₄ [M+H]⁺: 224.9759; found 224.9759 (0.99 ppm); calcd for: C₆H₉BrNaO₄ [M+Na]⁺: 246.9582; found 246.9580 (1.36 ppm).

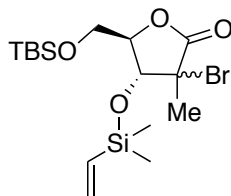
(4*R*,5*R*)-3-Bromo-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-4-hydroxy-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (S.1)



To a solution of lactones **4.7** (64.0 g, 284 mmol) in DMF (710 mL, 0.4 M) at 25 °C, imidazole (77.4 g, 1137 mmol) was added. The resultant solution was cooled to -30 °C, then TBSCl (45 g, 298 mmol) was slowly added to the cooled solution over 30 minutes. After 6 hours, the reaction was diluted with EtOAc (1 L) and treated with an aqueous solution of citric acid (500 mL, 0.4 M). The mixture was slowly warmed to room temperature. The aqueous layer was separated and extracted with EtOAc (2x). Combined organic fractions were washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 80:20) to give a mixture of silylethers **S.1ab** in a ~1.3:1 ratio (89.6 g, 93% yield). R_f = 0.4 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** C₁₂H₂₃BrO₄Si; **MW:** 339.30 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3457, 2931, 2855, 1771 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 4.84 (d, J = 6.3 Hz, 1H_a), 4.27 - 4.22 (m, 1H_a), 4.15 (dt, J = 8.1, 2.8 Hz, 1H_b), 4.04 (dd, J = 12.1, 2.6 Hz, 1H_b), 4.02 - 3.92 (m, 2H_a), 3.92 (dd, J = 12.1, 2.9 Hz, 1H_b), 3.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H_b), 1.96 (s, 3H_b), 1.90 (s, 3H_a), 0.92 (s, 9H_a), 0.90 (s, 9H_b), 0.13 (s, 6H_a), 0.11 (s, 3H_b),

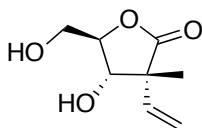
0.09 (s, 3H_b) ppm (The labile proton was not observed due to exchange with deuterated solvent); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.1, 171.6, 83.1, 82.7, 78.0, 74.0, 62.4, 61.7, 60.0, 57.0, 26.0 (6C), 24.5, 22.1, 18.5, 18.4, -5.19, -5.20, -5.24, -5.3 ppm; HRMS calcd for: C₁₂H₂₄BrO₄Si [M+H]⁺: 339.0622; found 339.0621 (-0.26 ppm).

(4*R*,5*R*)-3-Bromo-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-4((dimethyl(vinyl)silyl)oxy)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (3.3)



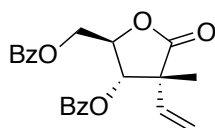
To a solution of silylether **S.1** (87.8 g, 259 mmol) in DCM (863 mL, 0.3 M) at 0 °C was added pyridine (62.8 mL, 777 mmol), followed by chloro(dimethyl)vinylsilane (38.9 mL, 285 mmol), stirred at 25 °C for 16 hours, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 90:10) to give a mixture of silylethers **3.3ab** in a ~1.3:1 ratio (105.2 g, 96% yield). *R_f* = 0.5 (Hexanes/EtOAc, 90:10); **Formula:** C₁₆H₃₁BrO₄Si₂; **MW:** 423.49 g/mol; **IR** (neat) *v*_{max} 2958, 2925, 2855, 1793 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 6.23 – 6.05 (m, 4H_{a,b}), 5.93 – 5.78 (m, 1H_b), 5.88 (dd, *J* = 19.4, 4.7 Hz, 1H_a), 4.86 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H_b), 4.18 (dt, *J* = 7.8, 1.9 Hz, 1H_a), 4.18 – 4.13 (m, 1H_b), 4.05 – 3.99 (m, 2H_a), 3.98 (dd, *J* = 11.9, 3.8 Hz, 1H_b), 3.83 (dd, *J* = 11.9, 3.6 Hz, 1H_b), 3.80 (dd, *J* = 12.6, 2.1 Hz, 1H_a), 1.86 (s, 3H_a), 1.82 (s, 3H_b), 0.92 (s, 9H_b), 0.89 (s, 9H_a), 0.30 (s, 12H_{a,b}), 0.10 (s, 9H_{a,b}), 0.07 (s, 3H_a) ppm; ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.6, 172.5, 136.5, 136.4, 135.0, 134.8, 84.3, 82.6, 77.5, 73.5, 60.6, 60.2, 58.7, 57.6, 26.0 (6C), 25.0, 22.6, 18.5, 18.4, -1.2, -1.3, -1.4 (2C), -5.1 (2C), -5.2 (2C) ppm; **HRMS** calcd for: C₁₆H₃₂BrO₄Si₂ [M+H]⁺: 423.1017; found 423.1013 (-1.05 ppm).

(+)-(3*R*,4*S*,5*R*)-4-Hydroxy-5-(hydroxymethyl)-3-methyl-3-vinyldihydrofuran-2(3*H*)-one (3.7)



To a solution of silylether **3.3** (105.2 g, 248 mmol) in toluene (500 mL, 0.5 M) at 0 °C, open to atmosphere, triethylborane (248.4 mL, 248 mmol) was added over 5 hours with air bubbling into the solution. Acetic acid (28.5 mL, 497 mmol) and methanol (500 mL, 0.5 M) were added at 0 °C to the reaction mixture which was warmed to 25 °C, stirred for 16 hours, and concentrated *in vacuo*. The residue was triturated with hexanes (1x) and filtered through a plug of silica eluting with EtOAc 100%. Evaporation of the filtrate gave a residue that was triturated with hexanes (3x) to give a dark brown solid (**3.7**) (42.4 g, quantitative yield). R_f = 0.3 (Hexanes/EtOAc, 50:50); $[\alpha]^{25}_D$ +53 (*c* 1.4, MeOH); **Formula**: C₈H₁₂O₄; **MW**: 172.18 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3419, 2936, 1766 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 6.07 – 5.96 (m, 1H), 5.29 (dd, *J* = 10.7, 0.7 Hz, 1H), 5.15 (dd, *J* = 17.7, 0.8 Hz, 1H), 4.12 – 4.03 (m, 2H), 3.94 (dd, *J* = 12.9, 1.8 Hz, 1H), 3.70 (dd, *J* = 12.9, 3.9 Hz, 1H), 1.33 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 177.8, 134.6, 115.9, 82.5, 74.7, 59.7, 51.6, 19.8 ppm; **HRMS** calcd for: C₈H₁₃O₄ [M+H]⁺: 173.0808; found 173.0804 (-2.70 ppm).

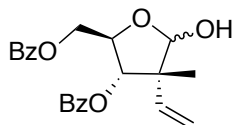
(+)-((2*R*,3*S*,4*R*)-3-(Benzoyloxy)-4-methyl-5-oxo-4-vinyltetrahydrofuran-2-yl)methyl benzoate (4.6**)**



To a solution of **3.7** (47.4 g, 275 mmol) in DCM (690 mL, 0.4 M), DMAP (3.36 g, 27.5 mmol) and pyridine (134 mL, 1652 mmol) were added at 25 °C. The mixture was cooled to 0 °C and treated with benzoyl chloride (95.7 mL, 826 mmol). The reaction was warmed to 25 °C, stirred for 16 hours, cooled to 0 °C, treated slowly with ethylenediamine (27.6 mL, 413 mmol) and stirred for 45 minutes at 0 °C. After being concentrated *in vacuo*, the mixture was filtered over Celite[®] (Hexanes/Et₂O, 50:50) to remove salts. The resultant yellow oil was chromatographed over silica eluting with Hexanes/Et₂O (50:50) to give the pure product **4.6** (68.1 g, 65% yield). R_f = 0.4 (Hexanes/Et₂O, 50:50); $[\alpha]^{25}_D$ +90 (*c* 2.0, DCM); **Formula**: C₂₂H₂₀O₆; **MW**: 380.40 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3070, 2952, 1787, 1723 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (appt, *J* = 7.8 Hz, 4H), 7.63 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.60 – 7.52 (m, 1H), 7.48 (appt, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.41 (appt, *J* = 7.7 Hz, 2H), 5.97 (dd, *J* = 17.6, 10.8 Hz, 1H), 5.57 (d,

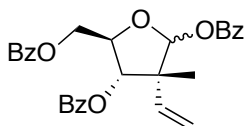
$J = 7.4$ Hz, 1H), 5.42 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 5.36 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 4.79 – 4.71 (m, 2H), 4.61 – 4.54 (m, 1H), 1.58 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 175.3, 166.2, 165.6, 134.2, 133.6, 132.8, 130.1 (3C), 130.0 (3C), 128.9 (2C), 128.7 (2C), 118.6, 77.3, 77.0, 63.3, 51.1, 21.7 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 381.1333; found 381.1317 (-4.17 ppm).

((2*R*,3*S*,4*R*)-3-(Benzoyloxy)-5-hydroxy-4-methyl-4-vinyltetrahydrofuran-2-yl)methyl benzoate (S.2)



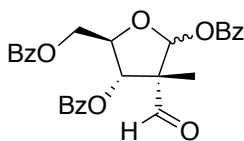
To a solution of lactone **4.6** (57.0 g, 150 mmol) in THF (500 mL, 0.3 M) at 0 °C, $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ (195 mL, 195 mmol) was slowly added over 30 minutes. The solution was warmed to 25 °C and stirred for 72 hours. Sodium sulfate decahydrate (72.3 g, 225 mmol) was slowly added to the mixture, which was stirred for 1 hour, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in EtOAc, filtered and rinsed with EtOAc 100% to remove the precipitate, then filtered through a plug of silica eluting with EtOAc 100% to provide a mixture of lactols **S.2ab** in a ~1.2:1 ratio as a yellow oil (49.3 g, 86% yield). $R_f = 0.3$ (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula**: $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_6$; **MW**: 382.41 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3457, 3070, 2952, 1728 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.10 – 7.99 (m, 8H_{a,b}), 7.65 – 7.51 (m, 4H_{a,b}), 7.51 – 7.35 (m, 8H_{a,b}), 6.31 (dd, $J = 17.8, 11.1$ Hz, 1H_a), 6.12 (dd, $J = 17.6, 11.0$ Hz, 1H_b), 5.59 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H_{a,b}), 5.38 – 5.23 (m, 4H_{a,b}), 5.20 (dd, $J = 21.9, 5.1$ Hz, 1H_b), 4.77 (dd, $J = 11.6, 3.4$ Hz, 1H_a), 4.74 – 4.65 (m, 4H_{a,b}), 4.62 (dt, $J = 11.6, 5.9$ Hz, 1H_{a or b}), 4.44 (td, $J = 6.5, 4.2$ Hz, 1H_{a or b}), 3.22 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H_b), 3.01 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H_a), 1.37 (s, 3H_a), 1.36 (s, 3H_b) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.6, 166.4, 166.1, 166.0, 138.1, 135.3, 133.5 (2C), 133.2, 133.1, 129.9 (12C), 128.7 (2C), 128.6 (2C), 128.53 (2C), 128.50 (2C), 117.8, 116.3, 104.5, 103.5, 81.1, 80.8, 79.9, 79.6, 66.4, 65.0, 52.6, 51.8, 20.8, 16.9 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 405.1309; found 405.1311 (0.59 ppm).

(3*R*,4*S*,5*R*)-5-((Benzoyloxy)methyl)-3-methyl-3-vinyltetrahydrofuran-2,4-diyl dibenzoate (4.5)



To a solution of **S.2** (38.4 g, 100 mmol) in DCM (350 mL, 0.3 M), DMAP (1.23 g, 10.04 mmol) and pyridine (24.4 mL, 301 mmol) were added at 25 °C. The mixture was cooled to 0 °C and treated with benzoyl chloride (17.5 mL, 151 mmol). The reaction was warmed to 25 °C, stirred for 72 hours, treated slowly with ethylenediamine (5.04 mL, 75.3 mmol) at 0 °C, stirred for 45 minutes at 0 °C, and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in Hexanes/EtOAc (50:50) and filtered over Celite[®] to remove salts. The filtrate was evaporated to provide an oil that was chromatographed over silica with Hexanes/EtOAc (80:20) as eluant to give a mixture of products **4.5ab** in a ~5:1 ratio as a yellow oil (48.5 g, quantitative yield). **R_f** = 0.4 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** C₂₉H₂₆O₇; **MW:** 486.52 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3065, 2968, 1728 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.18 – 8.14 (m, 2H_{a,b}), 8.11 – 8.02 (m, 8H_{a,b}), 7.94 (dd, *J* = 8.2, 1.3 Hz, 4H_{a,b}), 7.64 – 7.58 (m, 4H_{a,b}), 7.49 – 7.42 (m, 8H_{a,b}), 7.22 (appt, *J* = 7.8 Hz, 4H_{a,b}), 6.45 (s, 1H_a), 6.36 (s, 1H_b), 6.31 (dd, *J* = 17.8, 11.0 Hz, 1H_b), 6.20 (dd, *J* = 17.5, 11.2 Hz, 1H_a), 5.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H_{a,b}), 5.47 (s, 1H_a), 5.44 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H_a), 5.33 – 5.27 (m, 2H_b), 4.85 – 4.75 (m, 3H_b), 4.72 (dd, *J* = 11.5, 4.1 Hz, 1H_a), 4.64 – 4.59 (m, 1H_a), 4.56 (dd, *J* = 11.6, 5.6 Hz, 1H_a), 1.54 (s, 3H_b), 1.44 (s, 3H_a) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 166.4, 166.0, 165.9, 165.4, 165.3, 136.7, 134.8, 133.8 (2C), 133.7 (2C), 133.2 (2C), 130.07 (6C), 130.05 (6C), 129.9 (6C), 128.84 (4C), 128.80 (4C), 128.4 (4C), 118.1, 117.4, 103.6, 102.3, 84.6, 80.8, 79.8, 78.7, 65.3, 64.6, 52.3, 51.4, 21.2, 17.7 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₉H₂₆NaO₇ [M+Na]⁺: 509.1571; found 509.1576 (0.99 ppm).

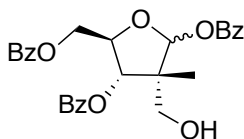
(3*S*,4*S*,5*R*)-5-((Benzoyloxy)methyl)-3-formyl-3-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl dibenzoate (S.3)



To a solution of **4.5** (49.2 g, 101 mmol) in DCM (1 L), pyridine (24.6 mL, 304 mmol) was added and the reaction was cooled to -78 °C. Ozone was bubbled into the solution for 6

hours, then Et₃N (14.0 mL, 101 mmol) was added to the mixture, which was warmed to room temperature and concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with EtOAc, washed with an aqueous solution of citric acid (0.1 M) (2x) and with a saturated solution of NaHCO₃ (1x), dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Aldehydes **S.3ab** (46.8 g, 95% yield) were obtained as a yellow oil in a ~4:1 ratio and were used without further purification. **R_f** = 0.3 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** C₂₈H₂₄O₈; **MW:** 488.49 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3070, 2958, 1728 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 10.08 (s, 1H_b), 9.99 (s, 1H_a), 8.11 – 8.03 (m, 10H_{a,b}), 7.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H_{a,b}), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H_{a,b}), 7.69 – 7.54 (m, 4H_{a,b}), 7.53 – 7.39 (m, 8H_{a,b}), 7.30 – 7.26 (m, 4H_{a,b}), 6.72 (s, 1H_a), 6.56 (s, 1H_b), 5.90 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H_a), 5.50 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H_b), 4.89 – 4.81 (m, 3H_b), 4.77 (dd, *J* = 12.4, 3.7 Hz, 1H_a), 4.74 – 4.69 (m, 1H_a), 4.61 (dd, *J* = 11.6, 5.8 Hz, 1H_a), 1.52 (s, 3H_b), 1.50 (s, 3H_a) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 198.5, 197.8, 166.3 (2C), 165.7 (2C), 165.0 (2C), 134.2 (2C), 134.0 (2C), 133.3 (2C), 130.11 (6C), 130.09 (6C), 129.9 (6C), 128.94 (4C), 128.90 (4C), 128.5 (4C), 102.1, 98.8, 85.0, 81.2, 80.4, 79.5, 65.1, 64.0, 60.7, 58.5, 14.4, 13.6 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₈H₂₄NaO₈ [M+Na]⁺: 511.1363; found 511.1362 (-0.33 ppm).

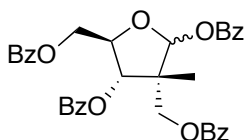
(3*R*,4*S*,5*R*)-5-((Benzoyloxy)methyl)-3-(hydroxymethyl)-3-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl dibenzoate (4.22)



To a solution of aldehydes **S.3** (18.6 g, 38.1 mmol) in THF (380 mL, 0.1 M) at 0 °C, LiAlH(*Ot*-Bu)₃ (53.3 mL, 53.3 mmol) was added dropwise and the reaction was warmed to room temperature. After 2 hours, the mixture was cooled to 0 °C, treated slowly with sodium sulfate decahydrate (24.5 g, 76.2 mmol), warmed to room temperature, stirred for 45 minutes and concentrated *in vacuo*. The concentrate was diluted with Et₂O and filtered to remove the salts. After evaporation, the residue was filtered over silica eluting with Et₂O 100% to provide alcohols **4.22ab** (12.0 g, 64% yield) as a white solid in a ~1.6:1 ratio of anomers. **R_f** = 0.3 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** C₂₈H₂₆O₈; **MW:** 490.51 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3483, 3070, 2947, 1723 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.20 – 7.87 (m, 14H_{a,b}), 7.69 – 7.54 (m, 4H_{a,b}), 7.55 – 7.36 (m, 8H_{a,b}), 7.30 (appt, *J* = 7.8 Hz, 2H_{a,b}), 7.24 (appt, *J* = 7.8 Hz, 2H_{a,b}), 6.62 (d,

$J = 4.8$ Hz, $1H_a$), 5.81 (d, $J = 6.5$ Hz, $1H_b$), 4.75 – 4.64 (m, $4H_b$), 4.64 – 4.52 (m, $4H_a$), 4.44 (d, $J = 8.0$ Hz, $1H_a$), 4.39 (dt, $J = 8.2, 4.2$ Hz, $1H_a$), 4.04 (d, $J = 11.3$ Hz, $1H_b$), 3.95 (d, $J = 11.2$ Hz, $1H_b$), 1.38 (s, $3H_b$), 1.36 (s, $3H_a$) ppm (The labile proton was not observed due to exchange with deuterated solvent); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 167.1, 166.9, 166.4, 166.0, 165.6, 165.5, 133.9, 133.7, 133.6, 133.5, 133.4, 133.2, 130.04 (3C), 130.02 (3C), 129.96 (9C), 129.88 (3C), 128.9 (2C), 128.82 (2C), 128.79 (2C), 128.77 (2C), 128.6 (2C), 128.4 (2C), 101.6, 100.9, 82.5, 81.0, 79.2, 77.8, 65.7, 65.3, 64.8 (2C), 51.6, 49.9, 16.5, 16.3 ppm; HRMS calcd for: $C_{28}H_{26}NaO_8$ $[M+Na]^+$: 513.1520; found 513.1518 (-0.41 ppm).

(3*R*,4*S*,5*R*)-3,5-Bis((benzyloxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl dibenzoate (4.4)

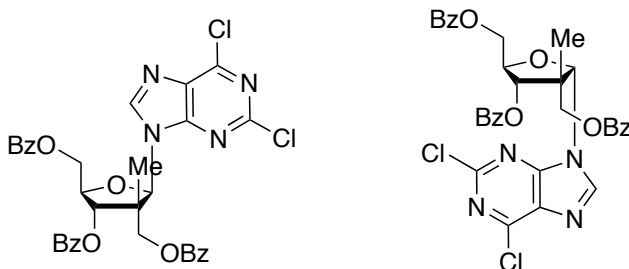


To a solution of alcohol **4.22** (5.92 g, 12.1 mmol) in DCM (61 mL, 0.2 M), DMAP (147.3 mg, 1.21 mmol) and pyridine (3.91 mL, 48.3 mmol) were added at 25 °C. The mixture was cooled to 0 °C, treated with benzoyl chloride (2.80 mL, 24.1 mmol), warmed to 25 °C, stirred for 24 hours, cooled to 0 °C, treated slowly with ethylenediamine (1.21 mL, 18.1 mmol) and stirred for 45 minutes at 0 °C. After being concentrated *in vacuo*, the concentrate was filtered over Celite® (Hexanes/EtOAc, 50:50) to remove salts. The filtrate was evaporated and chromatographed over silica gel using a gradient of Hexanes/EtOAc (80:20→50:50) as eluant. Evaporation of the collected fractions gave pure products **4.4ab** (5.14 g, 72% yield) as a white foam in a ~7:1 ratio of anomers. $R_f = 0.5$ (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** $C_{35}H_{30}O_9$; **MW:** 594.62 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3065, 2958, 1728 cm^{-1} ; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (d, $J = 6.9$ Hz, $8H_{a,b}$), 8.05 (dd, $J = 8.2, 1.2$ Hz, $4H_{a,b}$), 7.93 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, $4H_{a,b}$), 7.70 – 7.53 (m, $4H_{a,b}$), 7.53 – 7.37 (m, $16H_{a,b}$), 7.32 – 7.21 (m, $4H_{a,b}$), 6.74 (s, $1H_a$), 6.57 (s, $1H_b$), 5.92 (d, $J = 6.7$ Hz, $1H_a$), 5.46 (d, $J = 3.3$ Hz, $1H_b$), 4.76 – 4.63 (m, $6H_{a,b}$), 4.63 – 4.55 (m, $2H_{a,b}$), 4.40 (d, $J = 13.0$ Hz, $1H_b$), 4.18 (d, $J = 13.1$ Hz, $1H_b$), 1.58 (s, $3H_b$), 1.49 (s, $3H_a$) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 166.5 (2C), 166.3 (2C), 165.9 (2C), 165.4 (2C), 133.8 (2C), 133.6 (2C), 133.4 (2C), 133.2 (2C), 130.11 (6C), 130.07 (6C), 129.92 (6C), 129.89 (6C), 128.91 (4C), 128.88 (4C), 128.8 (4C), 128.5 (4C), 102.1, 101.1, 85.2, 80.8, 79.2, 78.7, 65.8, 65.6, 64.4, 64.2,

50.4, 50.0, 21.3, 16.8 ppm; **HRMS** calcd for: C₃₅H₃₀NaO₉ [M+Na]⁺: 617.1782; found 617.1795 (2.18 ppm).

(–)-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3-(Benzoyloxy)-5-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-4-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl)bis(methylene) dibenzoate (4.3a, β-anomer)

((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-3-(Benzoyloxy)-5-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-4-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl)bis(methylene) dibenzoate (4.3b, α-anomer)



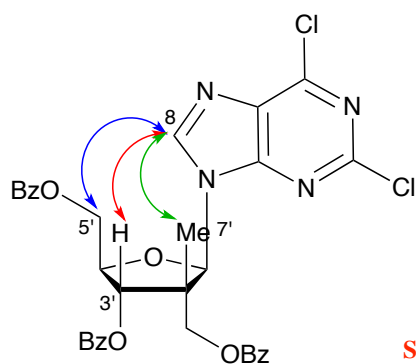
To a mixture of benzoylated sugars **4.4** (4.77 g, 8.02 mmol) and 2,6-dichloropurine (1.67 g, 8.82 mmol) in dry acetonitrile (32 mL) at –10 °C, DBU (3.67 mL, 24.1 mmol) was added. The mixture was stirred for 5 minutes and treated dropwise with TMSOTf (5.9 mL, 32.1 mmol) over 2 minutes. After 6 hours at –10 °C, the reaction was quenched by addition of a saturated solution of NaHCO₃ (5 mL) at –10 °C, suspended in DCM and washed with a saturated solution of NaHCO₃. The aqueous layer was extracted with DCM (3x) and the combined organic fractions were washed with an aqueous solution of citric acid (0.1 M), dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo* to provide a beige foam. The ¹H NMR spectrum of the crude purine showed a ~8:1 ratio of β:α anomers. The foam was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 80:20) to give a white solid as a mixture of anomers **4.3ab** in a ~10:1 (β:α) ratio (3.96 g, 74% yield). β and α anomers were identified by nOe correlations which are detailed below. **R_f** = 0.32 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** C₃₃H₂₆Cl₂N₄O₇; **MW:** 661.49 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3065, 2968, 2244, 1723, 1589, 1551, 1267 cm^{–1}; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.57 (s, 1H_b), 8.47 (s, 1H_a), 8.13 – 8.09 (m, 2H_b), 8.07 (appt, *J* = 6.7 Hz, 4H_a), 7.98 (dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, 2H_b), 7.79 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H_b), 7.76 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H_a), 7.66 – 7.55 (m, 6H_{a,b}), 7.51 – 7.37 (m, 12H_{a,b}), 6.64 (s, 1H_a), 6.59 (s, 1H_b), 5.72 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H_a), 5.70 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H_b), 5.02 (dt, *J* = 5.9, 4.1 Hz, 1H_b), 4.93 – 4.88 (m, 3H_a), 4.86 (dd, *J* = 12.1, 3.9 Hz, 1H_b), 4.80 (dd, *J* = 12.0, 5.8 Hz, 1H_b), 4.65 (dt, *J* = 6.1, 4.6 Hz, 1H_a), 4.55 (d,

$J = 11.6$ Hz, $1H_a$), 4.41 (d, $J = 11.9$ Hz, $1H_b$), 4.35 (d, $J = 11.9$ Hz, $1H_b$), 1.76 (s, $3H_b$), 1.25 (s, $3H_a$) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 166.5, 166.3, 166.0, 165.8, 165.72, 165.68, 153.7, 153.6, 153.2, 152.6, 152.4, 152.3, 144.2, 144.0, 134.5, 134.3, 133.84, 133.79, 133.75, 133.73, 131.1, 130.6, 130.1 (3C), 130.0 (3C), 129.93 (3C), 129.91 (3C), 129.58 (3C), 129.4 (3C), 129.2 (2C), 129.0 (2C), 128.91 (2C), 128.88 (2C), 128.78 (2C), 128.74 (2C), 91.8, 89.2, 85.2, 81.2, 79.9, 78.4, 65.9, 64.6, 63.6 (2C), 50.3, 49.4, 22.4, 17.8 ppm; HRMS calcd for: $C_{33}H_{26}Cl_2N_4NaO_7$ $[M+Na]^+$: 683.1071; found 683.1091 (2.96 ppm).

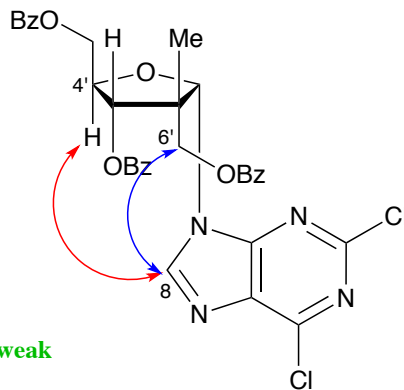
β -anomer (4.3a):

$[\alpha]^{25}_D -15$ (c 1.3, MeOH); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.46 (s, 1H), 8.07 (appt, $J = 7.1$ Hz, 4H), 7.75 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.67 – 7.54 (m, 3H), 7.47 (appdt, $J = 10.5, 7.7$ Hz, 4H), 7.39 (appt, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.64 (s, 1H), 5.72 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 4.95 – 4.86 (m, 3H), 4.65 (q, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.54 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 1.25 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 166.5, 166.0, 165.8, 153.6, 152.6, 152.3, 144.2, 134.3, 133.8, 133.7, 131.1, 130.1 (3C), 129.9 (3C), 129.4 (3C), 129.0 (2C), 128.9 (2C), 128.7 (2C), 89.2, 81.2, 78.4, 65.9, 63.6, 49.4, 17.8 ppm; HRMS calcd for: $C_{33}H_{26}Cl_2N_4NaO_7$ $[M+Na]^+$: 683.1071; found 683.1066 (-0.74 ppm).

Interactions observed by nOe experiments:



β -anomer (4.3a)

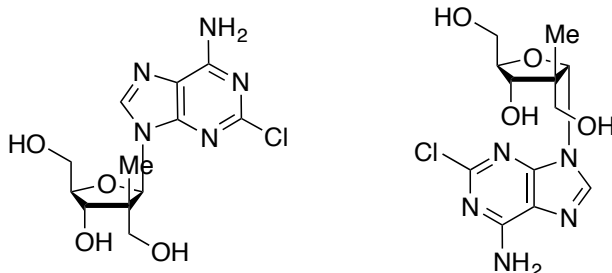


α -anomer (4.3b)

Strong, medium, weak

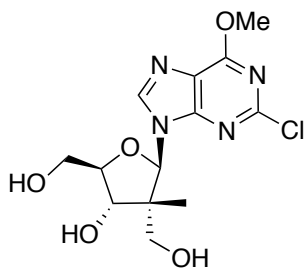
(-)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl)dimethanol (**4.2a**, β -anomer)

((2*R*,3*S*,4*R*,5*S*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl)dimethanol (**4.2b**, α -anomer)



To a solution of **4.3ab** (3.61 g, 5.46 mmol) in MeOH (125 mL) in a high pressure flask at room temperature, $\text{NH}_3(\text{g})$ was bubbled until saturation. The flask was rapidly closed with a high pressure seal and the solution was stirred at 80 °C for 24 hours. Into the solution, $\text{NH}_3(\text{g})$ was bubbled for a second time until saturation and after closing the high pressure flask, the reaction was stirred for another 16 hours at 80 °C. The mixture was diluted with MeOH (100 mL) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH, 90:10) to provide a white foam as a mixture of anomers **4.2ab** in a ~12:1 (β : α) ratio (1.28 g, 71% yield). A small amount of pure β -anomer **4.42a** was isolated and characterized after purification. R_f = 0.17 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ (β -anomer) -10 (c 1.0, MeOH); **Formula:** $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ClN}_5\text{O}_4$; **MW:** 329.74 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3339, 3199, 2936, 1653, 1594 cm^{-1} ; **^1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ 8.94 (s, 1H_b), 8.49 (s, 1H_a), 6.38 (s, 1H_b), 6.29 (s, 1H_a), 4.37 (d, J = 8.8 Hz, 1H_a), 4.08 (ddd, J = 8.8, 3.6, 2.2 Hz, 1H_a), 3.99 (dd, J = 12.4, 2.2 Hz, 1H_a), 3.93 – 3.85 (m, 2H_a), 3.78 (d, J = 11.3 Hz, 1H_a), 0.86 (s, 3H_b), 0.71 (s, 3H_a) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **^{13}C NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ 156.9, 154.1, 150.3, 140.7, 117.9, 89.5, 84.5, 75.1, 64.3, 60.5, 50.5, 16.1 ppm (Carbon peaks were not observed for the α -anomer); **HRMS** calcd for: $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ClN}_5\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 352.0783; found 352.0783 (-0.096 ppm).

(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(2-Chloro-6-methoxy-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl)dimethanol (4.42a)



Pure β -anomer **4.42a** was successfully crystallized in ethyl acetate (EtOAc) and proof of structure was obtained by the X-ray analysis shown below. $R_f = 0.35$ (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D +14$ (c 0.8, MeOH); **Formula:** $C_{13}H_{17}ClN_4O_5$; **MW:** 344.75 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3335, 2933, 2880, 1598, 1471 cm^{-1} ; **1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ 8.76 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.37 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.20 (s, 3H), 4.13 – 4.06 (m, 1H), 3.99 (dd, $J = 12.4, 2.3$ Hz, 1H), 3.93 – 3.85 (m, 2H), 3.79 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 0.70 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **^{13}C NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ 161.4, 153.1, 152.6, 143.0, 119.8, 89.5, 84.6, 74.9, 64.1, 60.4, 54.5, 50.6, 16.1 ppm; **HRMS** calcd for: $C_{13}H_{17}ClN_4NaO_5$ $[M+Na]^+$: 367.0780; found 367.0781 (0.46 ppm).

X-ray structure of nucleoside 4.42a:

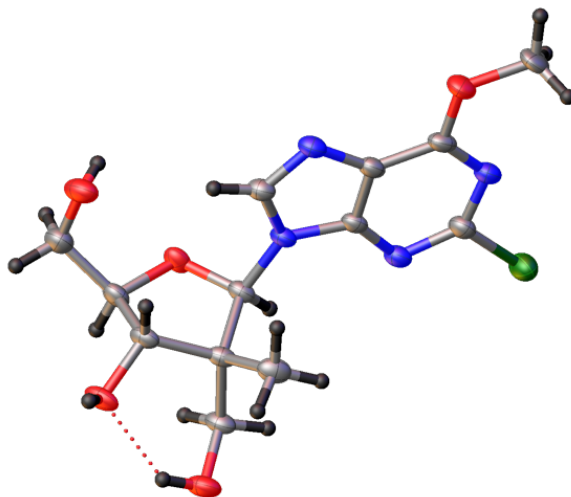


Table 1. Crystal data and structure refinement for C₁₃H₁₇ClN₄O₅ (4.42a)

Identification code	guin83
Empirical formula	C ₁₃ H ₁₇ ClN ₄ O ₅
Formula weight	344.75
Temperature	150 K
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 ₁
Unit cell dimensions	a = 5.5294(4) Å α = 90 ° b = 13.3860(9) Å β = 94.993(2) ° c = 10.3837(7) Å γ = 90 °
Volume	765.65(9) Å ³
Z	2
ρ _{calc}	1.495 g/cm ³
μ	1.635 mm ⁻¹
F(000)	360.0
Crystal size	(0.18 × 0.07 × 0.02) mm ³
Radiation	GaKα (λ = 1.34139)
Theta range for data collection	9.4 to 121.482 °
Index ranges	-7 ≤ h ≤ 7, -17 ≤ k ≤ 17, -13 ≤ l ≤ 13
Reflections collected	20090
Independent reflections	3361 [R _{int} = 0.0439, R _{sigma} = 0.0298]
Data / restraints / parameters	3361 / 1 / 224
Goodness-of-fit on F ²	1.069
Final R indexes [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0.0326, wR ₂ = 0.0826
Final R indexes [all data]	R ₁ = 0.0338, wR ₂ = 0.0834
Largest diff. peak/hole	0.34/-0.34 eÅ ⁻³
Flack parameter	0.13(2)

Table 2. Fractional atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for guin83

U_{eq} is defined as 1/3 of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor

Atom	x	y	z	U_{eq}
Cl1	1650.7(13)	6114.8(5)	-733.5(6)	37.0(2)
O1	3897(3)	4530.5(12)	5213.1(17)	27.2(4)
O2	4383(4)	1558.7(14)	3420(2)	35.7(4)
O3	6666(4)	2136.9(13)	5674(2)	32.6(4)
O4	7827(4)	4767.6(16)	7241(2)	38.9(5)
O5	8968(4)	7763.4(14)	1340.4(18)	34.5(5)
N1	5970(4)	5165.1(14)	3522.4(19)	22.3(4)
N2	8958(4)	6300.5(15)	3537(2)	26.5(4)
N3	5529(4)	6953.9(16)	408(2)	28.6(5)
N4	3748(4)	5561.0(16)	1463(2)	26.0(4)
C1	4429(4)	4349.9(17)	3926(2)	22.4(5)
C2	5587(4)	3304.9(17)	3872(2)	22.5(5)
C3	6598(5)	3154.3(18)	5296(3)	25.2(5)
C4	4780(5)	3724.0(18)	6049(3)	26.9(5)
C5	5792(6)	4138(2)	7339(3)	35.9(6)
C6	7452(5)	3221(2)	2879(3)	31.4(5)
C7	3528(5)	2550.5(18)	3517(3)	27.2(5)
C8	8030(5)	5558.7(18)	4166(2)	25.4(5)
C9	7420(5)	6389.4(17)	2407(2)	24.9(5)
C10	7313(5)	7045.1(18)	1355(2)	27.3(5)
C11	3911(5)	6222.3(19)	533(2)	27.7(5)
C12	5584(4)	5691.4(17)	2392(2)	23.0(5)
C13	8761(7)	8445(2)	241(3)	39.7(7)

Table 3. Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for guin83**The anisotropic displacement factor exponent takes the form:**

$$-2\pi^2[h^2a^{*2}U_{11}+2hka^*b^*U_{12}+\dots]$$

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
Cl1	44.7(4)	29.1(3)	35.3(3)	4.4(3)	-7.3(2)	-3.9(3)
O1	31.7(9)	18.3(8)	32.3(9)	5.2(7)	7.1(7)	7.2(7)
O2	40.4(11)	16.9(8)	48.8(12)	-2.0(8)	-2.2(9)	-1.1(8)
O3	30.5(11)	15.9(8)	49.7(11)	7.2(7)	-5.6(8)	2.7(7)
O4	47.3(12)	20.9(10)	46.3(12)	0.7(8)	-8.1(9)	-0.7(9)
O5	45.9(12)	22.4(9)	35.5(9)	3.1(7)	5.0(8)	-12.3(8)
N1	23.3(10)	14.7(9)	28.6(9)	1.5(7)	0.5(8)	-1.5(7)
N2	28(1)	18.3(10)	33.2(10)	0.0(7)	2.8(8)	-3.9(8)
N3	37.8(13)	17.4(9)	30.5(10)	0.1(8)	2.6(8)	-3.3(8)
N4	28.8(11)	17.2(9)	31.7(10)	0.5(7)	1.3(8)	-0.7(8)
C1	20.8(11)	15.6(10)	30.9(11)	2.3(8)	2.6(9)	-0.5(8)
C2	19.1(11)	14.9(10)	33.4(11)	-0.3(8)	1.9(9)	-0.5(8)
C3	24.1(12)	15.1(10)	35.4(12)	2.2(9)	-2.7(9)	1.3(8)
C4	32.0(13)	16.4(11)	32.6(12)	5.9(9)	4(1)	3.0(9)
C5	50.6(17)	22.2(13)	34.6(13)	2.2(10)	2.0(12)	-0.3(11)
C6	26.9(13)	23.8(12)	44.8(14)	-3.5(10)	9.4(11)	1.0(9)
C7	24.5(12)	17.4(11)	39.0(13)	1.0(9)	-1.5(10)	-3.4(9)
C8	25.4(12)	18.8(11)	31.8(11)	-0.8(9)	0.4(9)	-1.7(9)
C9	31.0(13)	15.5(10)	28.8(11)	-0.3(8)	5.0(9)	-1.6(9)
C10	33.9(14)	15.9(10)	33.1(11)	-2.7(9)	7.6(10)	-5.0(9)
C11	33.9(13)	17.3(11)	31.5(11)	1.3(9)	1.0(9)	1.2(9)
C12	26.8(12)	13.7(10)	28.8(11)	-0.4(8)	3.9(9)	0.6(8)
C13	60.4(19)	20.3(12)	40.1(14)	6.7(11)	13.1(13)	-12.5(12)

Table 4. Bond lengths for guin83

Atom	Atom	Length (Å)	Atom	Atom	Length (Å)
Cl1	C11	1.739(3)	N3	C10	1.336(4)
O1	C1	1.414(3)	N3	C11	1.340(3)
O1	C4	1.443(3)	N4	C11	1.319(3)
O2	C7	1.416(3)	N4	C12	1.349(3)
O3	C3	1.417(3)	C1	C2	1.541(3)
O4	C5	1.416(4)	C2	C3	1.548(4)
O5	C10	1.329(3)	C2	C6	1.524(4)
O5	C13	1.458(3)	C2	C7	1.543(3)
N1	C1	1.468(3)	C3	C4	1.530(4)
N1	C8	1.375(3)	C4	C5	1.511(4)
N1	C12	1.370(3)	C9	C10	1.399(3)
N2	C8	1.317(3)	C9	C12	1.379(3)
N2	C9	1.393(3)			

Table 5. Bond angles for guin83

Atom	Atom	Atom	Angle (°)	Atom	Atom	Atom	Angle (°)
C1	O1	C4	110.68(18)	C4	C3	C2	102.97(19)
C10	O5	C13	117.0(2)	O1	C4	C3	105.57(19)
C8	N1	C1	128.5(2)	O1	C4	C5	109.8(2)
C12	N1	C1	125.2(2)	C5	C4	C3	115.2(2)
C12	N1	C8	106.3(2)	O4	C5	C4	112.9(2)
C8	N2	C9	104.3(2)	O2	C7	C2	112.7(2)
C10	N3	C11	116.9(2)	N2	C8	N1	113.0(2)
C11	N4	C12	110.0(2)	N2	C9	C10	133.8(2)
O1	C1	N1	108.46(19)	C12	C9	N2	110.3(2)
O1	C1	C2	108.13(18)	C12	C9	C10	115.8(2)
N1	C1	C2	114.27(18)	O5	C10	N3	121.5(2)
C1	C2	C3	101.51(19)	O5	C10	C9	118.7(2)
C1	C2	C7	107.61(19)	N3	C10	C9	119.7(2)
C6	C2	C1	113.6(2)	N3	C11	Cl1	115.42(18)
C6	C2	C3	115.3(2)	N4	C11	Cl1	114.1(2)
C6	C2	C7	108.6(2)	N4	C11	N3	130.5(2)
C7	C2	C3	109.9(2)	N1	C12	C9	106.2(2)
O3	C3	C2	112.9(2)	N4	C12	N1	126.7(2)
O3	C3	C4	109.9(2)	N4	C12	C9	127.1(2)

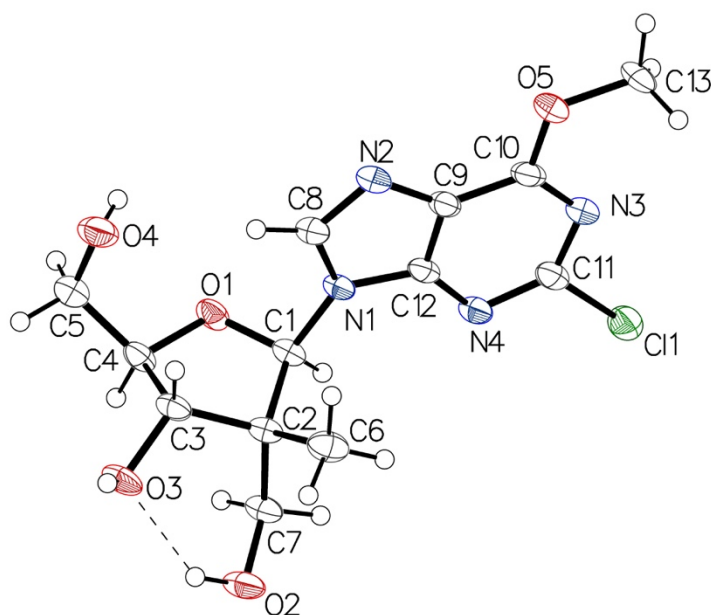
Table 6. Hydrogen bonds for guin83

D	H	A	d(D-H) (Å)	d(H-A) (Å)	d(D-A) (Å)	D-H-A (°)
O2	H2	O3	0.89(4)	1.96(4)	2.675(3)	137(3)
O3	H3	N2 ^a	0.80(5)	1.93(5)	2.727(3)	169(5)
O4	H4	O2 ^b	0.75(5)	2.01(5)	2.751(3)	172(5)

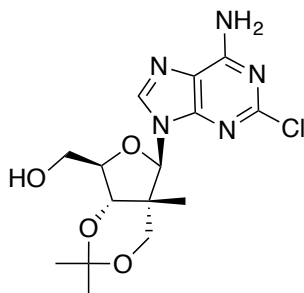
^a 2-X,-1/2+Y,1-Z. ^b 1-X,1/2+Y,1-Z.

Table 7. Hydrogen atom coordinates ($\text{\AA} \times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for guin83

Atom	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>U</i> _{eq}
H2	5240(70)	1410(30)	4160(40)	40(9)
H3	8040(90)	1950(40)	5860(40)	59(13)
H4	7180(90)	5250(40)	7130(40)	54(13)
H1	2875	4352	3357	27
H3A	8249	3459	5449	30
H4A	3392	3270	6193	32
H5A	4504	4521	7726	43
H5B	6269	3576	7927	43
H6A	6658	3341	2012	47
H6B	8162	2549	2917	47
H6C	8736	3717	3070	47
H7A	2352	2576	4183	33
H7B	2661	2747	2681	33
H8	8713	5321	4980	31
H13A	9136	8086	-540	60
H13B	9905	8999	403	60
H13C	7103	8707	120	60

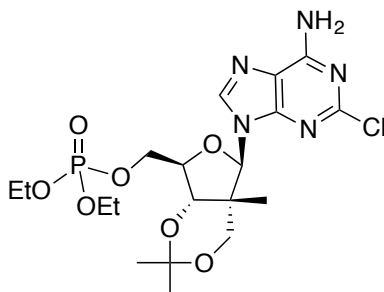


(+)-((4a*R*,5*R*,7*R*,7a*S*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-2,2,4a-trimethyltetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]dioxin-7-yl)methanol (4.28)



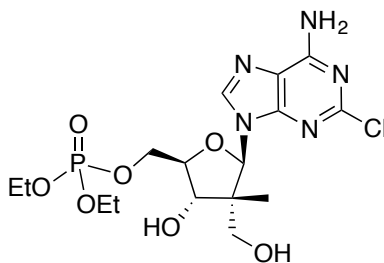
To a mixture of nucleosides **4.2ab** (1.05 g, 3.18 mmol), CSA (737 mg, 3.18 mmol), molecular sieves 3 Å (3.0 g) and dry acetone (32 mL, 0.1 M) at 25 °C, 2,2-dimethoxy propane (7.0 mL, 57.2 mmol) was added. After 16 hours, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH, 90:10) to provide two fractions: **A**) 365 mg (mixture 2:1 of β:α anomers) and **B**) 374 mg (white solid, only β-anomer **4.28**), 63% overall yield (Fractions **A** + **B**). (α-anomer was not characterized) R_f = 0.36 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ (β-anomer) +37 (*c* 0.7, MeOH); **Formula:** C₁₅H₂₀ClN₅O₄; **MW:** 369.81 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3322, 3172, 2984, 2936, 1648, 1594 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.32 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.20 – 4.07 (m, 3H), 3.97 – 3.77 (m, 2H), 3.63 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 0.82 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.9, 154.3, 150.2, 139.8, 117.8, 99.0, 89.4, 85.6, 78.2, 64.2, 62.0, 45.7, 26.0, 20.3, 15.7 ppm; **HRMS** calcd for: C₁₅H₂₀ClN₅NaO₄ [M+Na]⁺: 392.1096; found 392.1104 (2.03 ppm).

(+)-((4a*R*,5*R*,7*R*,7a*S*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-2,2,4a-trimethyltetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]dioxin-7-yl)methyl diethyl phosphate (4.1)



To a solution of alcohol **4.28** (1.13 g, 3.06 mmol) in THF (31 mL, 0.1 M), *t*-BuMgCl (4.58 mL, 4.58 mmol) was added dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. Diethylchlorophosphate (662 μ L, 4.58 mmol) was added slowly to the reaction mixture which was stirred for 4 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 50:50) using *Biotage Isolera One* to give phosphate **4.1** as a white solid (1.33 g, 86% yield). R_f = 0.6 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ +35 (*c* 1.0, MeOH); **Formula**: C₁₉H₂₉ClN₅O₇P; **MW**: 505.89 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3323, 3182, 2987, 1650, 1595 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.32 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.44 – 4.33 (m, 3H), 4.33 – 4.27 (m, 1H), 4.25 – 4.15 (m, 4H), 4.12 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 3.67 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.41 – 1.32 (m, 6H), 0.82 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 156.6, 154.4, 150.4, 139.5, 118.6, 99.5, 89.7, 82.8 (d, *J* = 7.0 Hz), 78.2, 66.7 (d, *J* = 5.7 Hz), 64.8, 64.45, 64.40, 46.5, 26.6, 21.7, 16.9, 16.42, 16.37 ppm; **HRMS** calcd for: C₁₉H₂₉ClN₅NaO₇P [M+Na]⁺: 528.1385; found 528.1386 (0.11 ppm).

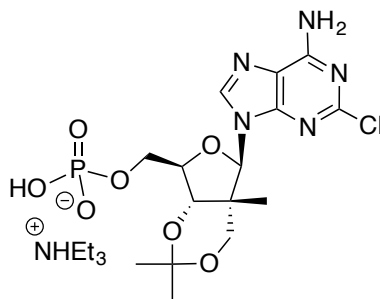
(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diethyl phosphate (1.5, LCB-2122)



To a solution of acetone **4.1** (360 mg, 0.711 mmol) in THF (7.1 mL, 0.1 M), a mixture of TFA/H₂O (8:2) (7.1 mL, 0.1 M) was slowly added at room temperature with open atmosphere. After 2 hours, MeOH was added and the reaction was concentrated *in vacuo*, then co-evaporated with MeOH (3x). The residue was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 70:30) using *Biotage Isolera One* to provide the final product **1.5** (**LCB-2122**) as a white solid (294 mg, 88% yield). R_f = 0.2 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ +7 (*c* 0.7, MeOH); **Formula**: C₁₆H₂₅ClN₅O₇P; **MW**: 465.83 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3328, 3194,

2984, 2915, 1653, 1594 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.19 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.53 (dt, J = 12.3, 6.2 Hz, 1H), 4.46 – 4.35 (m, 2H), 4.32 – 4.23 (m, 1H), 4.21 – 4.06 (m, 4H), 3.89 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.76 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 1.31 (qd, J = 7.0, 1.1 Hz, 6H), 0.73 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 157.0, 154.2, 150.2, 140.5, 118.1, 89.7, 82.6 (d, J = 7.5 Hz), 75.8, 67.3 (d, J = 5.8 Hz), 64.4 (t, J = 5.9 Hz) (2C), 64.1, 50.4, 15.9, 15.2 (t, J = 5.8 Hz) (2C) ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{ClN}_5\text{NaO}_7\text{P}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 488.1072; found 488.1072 (-0.031 ppm). Purity determined by HPLC for **LCB-2122** (Ref: FB-289-119-1.1) with CH_3CN (98% purity).

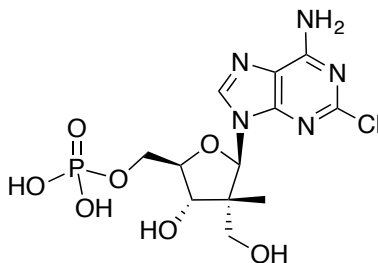
Triethylammonium (+)-((4a*R*,5*R*,7*R*,7a*S*)-5-(6-amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-2,2,4a-trimethyltetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]dioxin-7-yl)methyl hydrogen phosphate (4.30)



To a solution of **4.28** (36.7 mg, 99.2 μmol) in THF (1 mL) at 0 $^{\circ}\text{C}$, Et_3N (124 μL , 893 μmol) and POCl_3 (13.9 μL , 149 μmol) were added dropwise. After 2 hours at 0 $^{\circ}\text{C}$, ice chips were added to the reaction mixture which was stirred for another 1 hour at 0 $^{\circ}\text{C}$. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by reverse phase (C18) flash chromatography ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$, 70:30) using *Biotage Isolera One* to provide the ammonium salt **4.30** (white solid) (49.0 mg, 90% yield). $[\alpha]_D^{25} +22$ (*c* 2.3, MeOH); **Formula:** $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{ClN}_6\text{O}_7\text{P}$; **MW:** 550.98 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3383, 3199, 2988, 2941, 2673, 2496, 1648, 1596 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.39 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.31 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 4.25 (td, J = 4.9, 1.7 Hz, 1H), 4.16 (q, J = 5.5 Hz, 2H), 4.10 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 3.65 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 3.20 (q, J = 7.3 Hz, 6H), 1.46 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.32 (t, J = 7.3 Hz, 9H), 0.85 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 156.6, 154.1, 150.0, 139.9, 117.4, 98.6, 88.9, 84.2 (d, J = 8.7 Hz), 78.1,

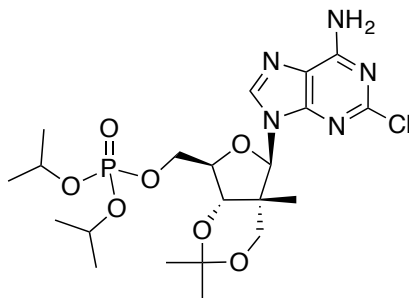
64.6 (d, $J = 4.9$ Hz), 63.7, 46.2 (3C), 44.8, 26.2, 19.7, 15.5, 7.8 (3C) ppm; **HRMS** calcd for: $C_{21}H_{37}ClN_6O_7P$ $[M+H]^+$: 551.2144; found 551.2138 (-1.17 ppm).

(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl dihydrogen phosphate (4.29)



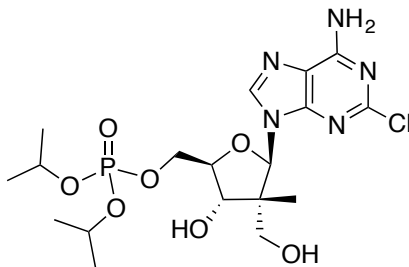
To a solution of compound **4.30** (156 mg, 0.347 mmol) in THF (3.5 mL, 0.1 M) was slowly added a mixture of TFA/H₂O (8:2) (3.5 mL, 0.1 M) at room temperature and open atmosphere. After 4 hours, MeOH was added and the reaction was concentrated *in vacuo*, then co-evaporated with MeOH (3x). Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 75:25) using *Biotage Isolera One* to provide the final product **4.29** as a white solid (31 mg, 22% yield). $[\alpha]_D^{25} +3$ (c 0.8, MeOH); **Formula**: $C_{12}H_{17}ClN_5O_7P$; **MW**: 409.72 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3322, 3129, 2936, 1670, 1591 cm^{-1} ; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.37 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.40 – 4.28 (m, 3H), 4.24 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.78 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 0.71 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.6, 154.0, 140.1, 128.4, 125.5, 88.9, 82.5 (d, $J = 8.0$ Hz), 74.9, 64.7, 63.9, 50.1, 15.7 ppm; **HRMS** calcd for: $C_{12}H_{16}ClN_5O_7P$ $[M-H]^-$: 408.0481; found 408.0482 (2.79 ppm).

(+)-((4*aR*,5*R*,7*R*,7*aS*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-2,2,4*a*-trimethyltetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]dioxin-7-yl)methyl diisopropyl phosphate (4.31)



To a solution of **4.28** (34.7 mg, 0.0938 mmol) in THF (1 mL, 0.1 M) was added *t*-BuMgCl (141 μ L, 0.141 mmol) dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. Diisopropyl chlorophosphate (24.9 μ L, 0.141 mmol) was added slowly and the reaction was stirred for 4 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 50:50) using *Biotage Isolera One* to give the product **4.31** as a white solid (34.8 mg, 70% yield). R_f = 0.55 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ +25 (*c* 2.4, MeOH); **Formula:** C₂₁H₃₃ClN₅O₇P; **MW:** 533.95 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3324, 3182, 2983, 2937, 1650, 1595 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.32 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.70 (hept, *J* = 12.7, 6.3 Hz, 2H), 4.35 (dd, *J* = 8.2, 5.0 Hz, 2H), 4.32 – 4.27 (m, 1H), 4.23 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 4.12 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 3.67 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.38 (t, *J* = 6.4 Hz, 12H), 0.83 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.6, 154.2, 150.0, 139.4, 117.5, 98.8, 89.0, 83.0 (d, *J* = 7.0 Hz), 77.8, 73.5 (d, *J* = 2.8 Hz), 73.4 (d, *J* = 2.5 Hz), 66.7 (d, *J* = 5.8 Hz), 63.6, 44.9, 26.0, 22.6, 22.54, 22.51, 22.50, 19.8, 15.5 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₁H₃₄ClN₅O₇P [M+H]⁺: 534.1879; found 534.1868 (-1.97 ppm).

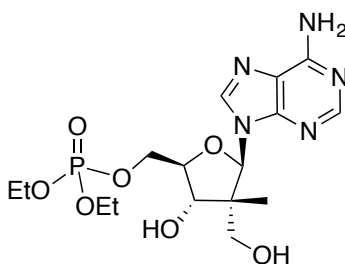
(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diisopropyl phosphate (4.32)



To a solution of compound **4.31** (34.8 mg, 0.0652 mmol) in THF (0.7 mL, 0.1 M) was slowly added a mixture of TFA/H₂O (8:2) (0.7 mL, 0.1 M) at room temperature and open atmosphere. After 4 hours, MeOH was added and the reaction was concentrated *in vacuo*, then co-evaporated with MeOH (3x). Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 60:40) using *Biotage Isolera One* to give the final product **4.32** as a white solid (23.9 mg, 74% yield). R_f = 0.3 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ +7 (*c* 1.7, MeOH);

Formula: C₁₈H₂₉ClN₅O₇P; **MW:** 493.88 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3344, 2984, 2936, 2405, 1615 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.20 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.71 – 4.58 (m, 2H), 4.50 (dt, J = 11.6, 5.9 Hz, 1H), 4.43 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.37 (ddd, J = 11.3, 5.2, 2.1 Hz, 1H), 4.31 – 4.22 (m, 1H), 3.89 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.76 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 1.33 (dd, J = 6.3, 2.3 Hz, 9H), 1.29 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 0.73 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.8, 153.9, 150.0, 140.4, 117.9, 89.5, 82.4 (d, J = 8.0 Hz), 75.5, 73.3 (d, J = 2.9 Hz), 73.2 (d, J = 2.8 Hz), 66.9 (d, J = 5.9 Hz), 63.9, 50.1, 22.4 (td, J = 5.1, 3.5 Hz) (4C), 15.7 ppm; **HRMS** calcd for: C₁₈H₃₀ClN₅O₇P [M+H]⁺: 494.1566; found 494.1579 (2.70 ppm).

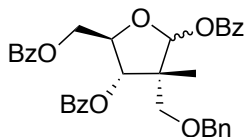
(-)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-9*H*-purin-9-yl)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diethyl phosphate (4.33)



To a solution of **1.5 (LCB-2122)** (22.9 mg, 0.0492 mmol) in MeOH (0.5 mL, 0.1 M) at room temperature was added Palladium on carbon (10 wt. %) (22.9 mg) and the N_{2(g)} was removed from the reaction and replaced by a positive pressure of H₂. After 6 hours at room temperature, the mixture was filtered over Celite[®] with MeOH/EtOAc (50:50) and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 60:40) using *Biotage Isolera One* to give the final product **4.33** as a white solid (15.2 mg, 72% yield). R_f = 0.2 (DCM/MeOH, 95:5); $[\alpha]_D^{25}$ -2 (c 0.8, MeOH); **Formula:** C₁₆H₂₆N₅O₇P; **MW:** 431.39 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3330, 3195, 2981, 1647, 1600 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.27 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.51 – 4.36 (m, 3H), 4.32 – 4.26 (m, 1H), 4.20 – 4.09 (m, 4H), 3.90 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.77 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 1.32 (tdd, J = 7.1, 2.0, 1.0 Hz, 6H), 0.71 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.0, 152.5, 149.0, 139.9, 118.8, 89.1, 82.1 (d, J = 7.5 Hz), 75.4, 66.8 (d, J = 5.8 Hz), 64.23 (d, J = 5.7 Hz), 64.18 (d,

$J = 5.8$ Hz), 63.9, 50.1, 15.7, 15.0 (d, $J = 5.1$ Hz), 14.9 (d, $J = 5.0$ Hz) ppm; **HRMS** calcd for: $C_{16}H_{27}N_5O_7P$ $[M+H]^+$: 432.1643; found 432.1642 (-0.13 ppm).

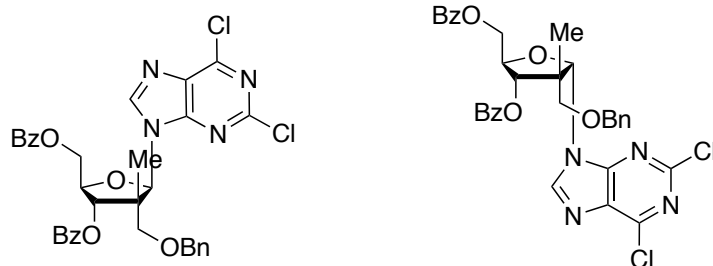
(3R,4S,5R)-5-((Benzoyloxy)methyl)-3-((benzyloxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-2,4-diyl dibenzoate (4.36)



To a solution of **4.22** (2.87 g, 5.85 mmol) in DCM/Cyclohexane (1:2) (60 mL, 0.1 M) at 0 °C was added benzyl 2,2,2-trichloroacetimidate (3.26 mL, 17.55 mmol) and TfOH (51.6 μ L, 0.585 mmol) dropwise. After 16 hours at room temperature, the reaction was quenched by Et_3N (122 μ L, 0.878 mmol) at 0 °C, stirred for 15 minutes and concentrated *in vacuo*. The product was filtered over Celite[®] with DCM, concentrated *in vacuo* and the crude product obtained was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/ EtOAc, 80:20) to give a mixture of products **4.36ab** in a ~5:1 ratio (2.53 g, 75% yield). $R_f = 0.4$ (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula:** $C_{35}H_{32}O_8$; **MW:** 580.63 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3065, 3033, 2941, 2882, 1720 cm^{-1} ; **1H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.10 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H_a), 8.06 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H_b), 8.00 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H_a), 7.96 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H_a), 7.92 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H_b), 7.59 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H_a), 7.52 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H_b), 7.50 – 7.29 (m, 20H_{a,b}), 7.26 – 7.20 (m, 2H_{a,b}), 6.66 (s, 1H_b), 6.62 (s, 1H_a), 5.79 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H_b), 4.74 (s, 2H_a), 4.68 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H_a), 4.64 (s, 2H_b), 4.63 – 4.49 (m, 6H_{a,b}), 4.44 (dd, $J = 11.8, 5.1$ Hz, 1H_a), 4.29 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H_a), 3.84 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H_b), 3.66 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H_b), 1.41 (s, 3H_a), 1.38 (s, 3H_b) ppm; **^{13}C NMR** (125 MHz, $CDCl_3$) δ 166.4, 166.3, 165.3, 137.3, 133.4, 133.2, 133.1, 129.72 (3C), 129.68 (3C), 129.67 (3C), 128.6 (2C), 128.53 (2C), 128.52 (2C), 128.3 (2C), 128.2, 127.7 (2C), 101.0, 84.6, 81.6, 73.9, 65.9, 65.3, 50.0, 17.3 ppm (Carbon peaks were identified only for the major anomer); **HRMS** calcd for: $C_{35}H_{32}NaO_8$ $[M+Na]^+$: 603.1989; found 603.1975 (-2.34 ppm).

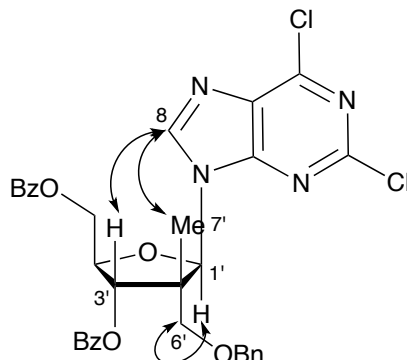
(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-3-(Benzoyloxy)-4-((benzyloxy)methyl)-5-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl benzoate (**4.37a**, β -anomer)

((2*R*,3*S*,4*R*,5*S*)-3-(Benzoyloxy)-4-((benzyloxy)methyl)-5-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl benzoate (**4.37b**, α -anomer)

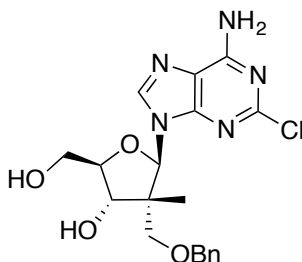


To a mixture of **4.36** (2.53 g, 4.36 mmol) and 2,6-dichloropurine (907 mg, 4.79 mmol) in dry acetonitrile (22 mL, 0.2 M) at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ was added DBU (1.99 mL, 13.1 mmol). The mixture was stirred and then TMSOTf (3.21 mL, 17.4 mmol) was added dropwise over 2 minutes. After 5 hours at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, the reaction was quenched by addition of a saturated solution of NaHCO_3 at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, suspended in DCM and washed with a saturated solution of NaHCO_3 . The aqueous layer was extracted with DCM (3x) and the combined organic fractions were washed with an aqueous solution of citric acid (0.1 M), dried (MgSO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. ^1H NMR of the crude showed a $\sim 7:1$ ratio of $\beta:\alpha$ anomers. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 70:30) to provide the pure β -anomer **4.37a** (1.08 g, 40% yield). β -anomer was identified by nOe correlations which are detailed below (α -anomer was not characterized). $R_f = 0.25$ (Hexanes/EtOAc, 70:30); $[\alpha]_D^{25} +16$ (c 0.8, MeOH); **Formula**: $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_6$; **MW**: 647.51 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3124, 3065, 2920, 1719, 1268 cm^{-1} ; **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3) δ 8.37 (s, 1H), 8.04 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 2H), 7.91 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 2H), 7.65 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.52 (appt, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.45 (appt, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 4.4$ Hz, 4H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.79 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 4.71 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.70 – 4.67 (m, 2H), 4.57 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 4.55 – 4.51 (m, 1H), 4.24 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.03 (s, 3H) ppm; **^{13}C NMR** (125 MHz, CDCl_3) δ 166.2, 166.1, 153.2, 152.4, 152.0, 144.0, 136.6, 133.6, 133.4, 130.9, 129.6 (3C), 129.4 (3C), 129.3, 128.8 (2C), 128.7 (2C), 128.6 (2C), 128.2 (2C), 89.1, 82.9, 81.1, 73.6, 66.3, 63.7, 49.4, 17.9 ppm; **HRMS** calcd for: $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 669.1278; found 669.1272 (-0.98 ppm).

Interactions observed by nOe experiments for β -anomer **4.37a**:



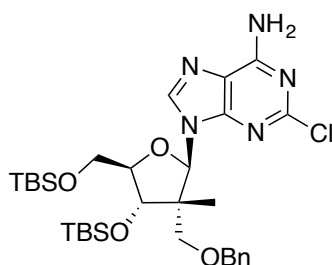
(–)-(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-4-((benzyloxy)methyl)-2-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-3-ol (**4.38**)



To a solution of **4.37a** (371 mg, 0.573 mmol) in MeOH (12 mL, 0.05 M) in a high pressure flask at room temperature was bubbled $\text{NH}_3(\text{g})$ until saturation of the system, then the flask was rapidly closed with a high pressure seal and the solution was stirred at 80 °C for 24 hours. $\text{NH}_3(\text{g})$ was bubbled for a second time until saturation of the system and after closing the high pressure flask, the reaction was stirred for another 16 hours at 80 °C. The mixture was diluted with MeOH (10 mL) and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH, 90:10) to give the product **4.38** as a white solid (178 mg, 74% yield). $R_f = 0.4$ (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]_D^{25} -13$ (c 1.1, MeOH); **Formula**: $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}_4$; **MW**: 419.87 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3357, 2936, 2882, 2362, 1614 cm^{-1} ; **^1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ 8.45 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.36 (appt, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.76 – 4.66 (m, 2H), 4.39 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.20 (ddd, $J = 8.3, 3.6, 2.5$ Hz, 1H), 3.97 (dd, $J = 12.4, 2.4$ Hz, 1H), 3.91 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 3.86 (dd,

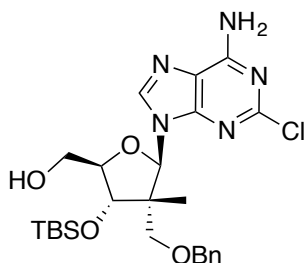
$J = 12.4, 3.7$ Hz, 1H), 3.77 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 0.68 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 156.7, 153.9, 150.1, 140.5, 138.1, 128.0 (2C), 127.9 (2C), 127.6, 117.6, 89.2, 83.6, 82.4, 73.4, 64.0, 60.8, 50.6, 16.5 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClN}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 420.1433; found 420.1429 (-0.90 ppm).

(+)-9-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3-((Benzyloxy)methyl)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-2-yl)-2-chloro-9*H*-purin-6-amine (4.39)



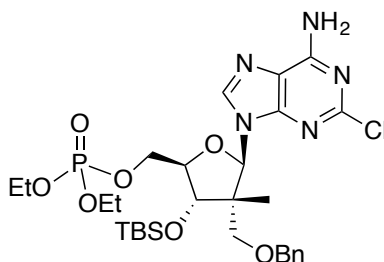
To a solution of **4.38** (317 mg, 0.756 mmol) in DCM (7.6 mL, 0.1 M) and DMF (1 drop) at 0 °C was added 2,6-Lutidine (438 μL , 3.78 mmol) and TBSOTf (0.515 mL, 2.27 mmol) dropwise. The reaction was stirred for 16 hours at room temperature, then quenched by addition of a saturated solution of NaHCO_3 and concentrated *in vacuo*. The product was diluted with Et_2O , washed with brine and HCl 0.1 M, dried (MgSO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/ EtOAc , 60:40) to give the product **4.39** as a white foam (321 mg, 65% yield). $R_f = 0.3$ (Hexanes/ EtOAc , 60:40); $[\alpha]_D^{25} +7$ (c 1.4, MeOH); **Formula:** $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{ClN}_5\text{O}_4\text{Si}_2$; **MW:** 648.39 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2925, 2855, 2324, 1612 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.48 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 4.4$ Hz, 4H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.23 (dt, $J = 8.2, 3.0$ Hz, 1H), 4.04 (dd, $J = 11.7, 2.5$ Hz, 1H), 4.01 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.95 (dd, $J = 11.7, 3.2$ Hz, 1H), 3.78 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 0.98 (s, 9H), 0.95 (s, 9H), 0.70 (s, 3H), 0.15 (s, 3H), 0.15 (s, 3H), 0.12 (s, 6H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 156.6, 154.1, 150.2, 140.0, 138.1, 128.1 (2C), 127.62, 127.60 (2C), 117.4, 88.5, 83.5, 82.1, 73.4, 64.9, 62.3, 50.8, 25.2 (3C), 25.1 (3C), 18.0, 17.8, 16.8, -6.59, -6.61, -6.7, -6.9 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{ClN}_5\text{O}_4\text{Si}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 648.3163; found 648.3175 (1.98 ppm).

(-)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-4-((benzyloxy)methyl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methanol (S.4)



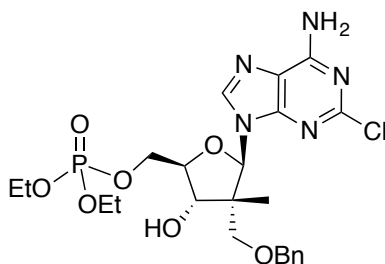
To a solution of **4.39** (358 mg, 0.552 mmol) in THF (6.1 mL, 0.09 M) at 0 °C was added TFA/H₂O (1:1, 3.08 mL, 0.18 M) and the mixture was stirred for 4 hours at 0 °C, then quenched slowly with a saturated solution of NaHCO₃. Aqueous phase was extracted with Et₂O (2x) and the organic fractions were washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH, 95:5) to give the product **S.4** as a white solid (207 mg, 70% yield). *R_f* = 0.5 (DCM/MeOH, 95:5); [*α*]_D²⁵ -14 (*c* 0.6, MeOH); **Formula**: C₂₅H₃₆ClN₅O₄Si; **MW**: 534.13 g/mol; **IR** (neat) *v*_{max} 2931, 2850, 2566, 2313, 1613 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.49 (s, 1H), 7.42 – 7.33 (m, 4H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 6.31 (s, 1H), 4.79 – 4.60 (m, 2H), 4.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.20 (dt, *J* = 8.1, 3.0 Hz, 1H), 4.01 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.97 (dd, *J* = 12.4, 2.5 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 12.4, 3.5 Hz, 1H), 3.77 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 0.94 (s, 9H), 0.69 (s, 3H), 0.11 (s, 6H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.6, 154.0, 150.2, 140.4, 138.2, 128.0 (2C), 127.7 (2C), 127.5, 117.4, 88.8, 83.6, 82.2, 73.4, 65.0, 60.7, 50.7, 25.0 (3C), 17.8, 16.7, -6.7, -6.9 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₅H₃₇ClN₅O₄Si [M+H]⁺: 534.2298; found 534.2290 (-1.40 ppm).

(+)-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-4-((benzyloxy)methyl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diethyl phosphate (4.40)



To a solution of **S.4** (200 mg, 0.374 mmol) in THF (4 mL, 0.1 M) was added *t*-BuMgCl (0.562 mL, 0.562 mmol) dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. Diethylchlorophosphate (81.3 μ L, 0.562 mmol) was added slowly and the reaction was stirred for 16 hours. Reaction was followed by aliquots, because TLC were not conclusive. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O \rightarrow MeCN) using *Biotage Isolera One* to give the product **4.40** as a white foam (216 mg, 86% yield). R_f = 0.5 (DCM/MeOH, 95:5); $[\alpha]^{25}_D +1$ (c 0.8, MeOH); **Formula:** C₂₉H₄₅ClN₅O₇PSi; **MW:** 670.22 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3172, 2931, 2855, 2362, 1642, 1583 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.18 (s, 1H), 7.45 – 7.36 (m, 4H), 7.36 – 7.30 (m, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.71 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 4.44 – 4.38 (m, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.27 (dd, J = 10.6, 5.7 Hz, 1H), 4.17 – 4.05 (m, 4H), 4.03 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 3.76 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 1.30 (qt, J = 7.1, 1.1 Hz, 6H), 0.95 (s, 9H), 0.73 (s, 3H), 0.13 (s, 6H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 156.7, 154.0, 150.1, 140.2, 137.9, 128.2 (2C), 127.9 (2C), 127.7, 117.7, 89.3, 83.0, 81.6 (d, J = 7.6 Hz), 73.5, 67.0 (d, J = 5.8 Hz), 65.1, 64.2 (t, J = 5.4 Hz) (2C), 50.5, 25.0 (3C), 17.7, 16.6, 15.0 (t, J = 5.8 Hz) (2C), -6.7, -6.9 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₉H₄₅ClN₅NaO₇PSi [M+Na]⁺: 692.2407; found 692.2419 (1.78 ppm).

(+)-((2R,3S,4R,5R)-5-(6-Amino-2-chloro-9H-purin-9-yl)-4-((benzyloxy)methyl)-3-hydroxy-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diethyl phosphate (4.34)

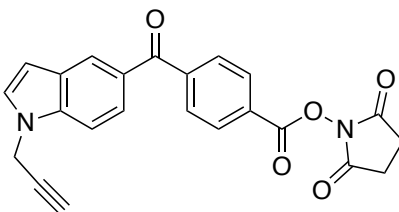


To a solution of compound **4.40** (29.3 mg, 0.0437 mmol) in THF (0.5 mL, 0.1 M) was slowly added a mixture of TFA/H₂O (8:2) (0.5 mL, 0.1 M) at room temperature and open atmosphere. After 4 hours, MeOH was added and the reaction was concentrated *in vacuo*, then co-evaporated with MeOH (3x). Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 50:50) using *Biotage Isolera One* to provide the final product

4.34 as a white solid (10.9 mg, 45% yield). $R_f = 0.4$ (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D +8$ (c 1.0, MeOH); **Formula:** $C_{23}H_{31}ClN_5O_7P$; **MW:** 555.95 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3370, 2979, 2909, 2383, 1613 cm^{-1} ; **1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ 8.17 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.39 (appt, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.36 – 7.31 (m, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.77 – 4.64 (m, 2H), 4.50 – 4.40 (m, 2H), 4.38 – 4.32 (m, 1H), 4.25 (ddd, $J = 11.1, 5.7, 2.5$ Hz, 1H), 4.17 – 4.02 (m, 4H), 3.93 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.77 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 1.28 (dtd, $J = 10.7, 7.1, 1.0$ Hz, 6H), 0.74 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **^{13}C NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ 156.8, 153.9, 149.9, 140.5, 137.9, 128.2 (2C), 128.1 (2C), 127.8, 117.9, 89.6, 83.0, 81.6 (d, $J = 7.7$ Hz), 73.5, 67.1 (d, $J = 5.8$ Hz), 64.2 (t, $J = 5.7$ Hz) (2C), 64.0, 50.4, 16.4, 15.0 (t, $J = 5.8$ Hz) (2C) ppm; **HRMS** calcd for: $C_{23}H_{32}ClN_5O_7P$ $[M+H]^+$: 556.1722; found 556.1748 (4.61 ppm).

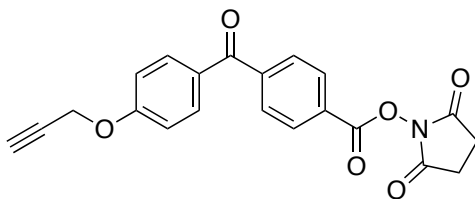
Section expérimentale du Chapitre 5

2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl 4-(1-(prop-2-yn-1-yl)-1*H*-indole-5-carbonyl)benzoate (5.13)



To a solution of acid **5.12** (506 mg, 1.67 mmol) (reported previously in the literature; Cravatt *et al.*)^{128b} in DCM (10 mL, 0.17 M) was added *N*-Hydroxysuccinimide (230 mg, 2.00 mmol) and EDC·HCl (358 mg, 1.87 mmol) at 25 °C and the mixture was stirred for 16 hours, before addition of H₂O. The aqueous layer was extracted with DCM (3x) and the combined organic fractions were washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 50:50) to give product **5.13** (257 mg, 39% yield) as a pale yellow foam. **R_f** = 0.45 (Hexanes/EtOAc, 30:70); **Formula**: C₂₃H₁₆N₂O₅; **MW**: 400.39 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3280, 1771, 1739, 1648, 1599, 1202 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 8.10 (dd, *J* = 1.7, 0.6 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.85 (dd, *J* = 8.7, 1.7 Hz, 1H), 7.52 (dt, *J* = 8.7, 0.8 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.67 (dd, *J* = 3.3, 0.8 Hz, 1H), 4.96 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H), 2.96 (s, 4H), 2.48 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 195.8, 169.0 (2C), 161.4, 144.7, 138.4, 130.4 (2C), 129.8 (2C), 129.2, 128.9, 128.3, 127.3, 125.8, 124.0, 109.6, 104.1, 76.9, 74.2, 36.2, 25.7 (2C) ppm; **HRMS** calcd for: C₂₃H₁₆N₂NaO₅ [M+Na]⁺: 423.0951; found 423.0938 (-3.26 ppm).

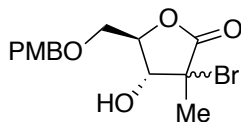
2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl 4-(4-(prop-2-yn-1-yloxy)benzoyl)benzoate (5.19)



To a solution of acid **5.18** (480 mg, 1.71 mmol) (reported previously in the literature)¹³⁰ in DCM (10 mL, 0.17 M) was added *N*-Hydroxysuccinimide (221 mg, 1.92 mmol) and

EDC·HCl (368 mg, 1.92 mmol) at 25 °C and the mixture was stirred for 16 hours, before addition of H₂O and Et₂O. The aqueous layer was extracted with Et₂O (2x) and the combined organic fractions were washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 50:50→Et₂O 100%) to give product **5.19** (500 mg, 77% yield) as a pale yellow solid. **R_f** = 0.25 (Et₂O 100%); **Formula**: C₂₁H₁₅NO₆; **MW**: 377.35 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3300, 1725, 1325, 1180 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.09 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.81 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 2.95 (s, 4H), 2.59 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 194.2, 169.0 (2C), 161.6, 161.3, 143.7, 132.5 (2C), 130.5 (2C), 130.0, 129.7 (2C), 127.7, 114.7 (2C), 77.6, 76.4, 55.9, 25.7 (2C) ppm; **HRMS** calcd for: C₂₁H₁₅NO₆Na [M+Na]⁺: 400.0791; found 400.0797 (1.29 ppm).

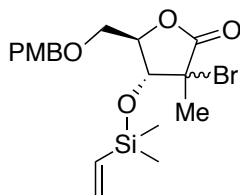
(4*R*,5*R*)-3-Bromo-4-hydroxy-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (5.29)



To a solution of **4.7** (2.01 g, 8.92 mmol) in DCM/Cyclohexane (1:2, 90 mL, 0.1 M) with DMF (~3 mL) at 0 °C was added 4-methoxybenzyl-2,2,2-trichloroacetimidate (2.04 mL, 9.81 mmol) and TfOH (78.7 μ L, 0.892 mmol) dropwise. The mixture was warmed to room temperature, stirred for 16 hours and quenched with Et₃N (187 μ L, 1.34 mmol) at 0 °C. After 10 minutes, the reaction was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 30:70) to give products **5.29ab** (2.60 g, 84% yield) as a pale yellow solid in a ~16:1 ratio. **R_f** = 0.25 (Hexanes/Et₂O, 30:70); **Formula**: C₁₄H₁₇BrO₅; **MW**: 345.19 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3435, 2931, 2866, 1782, 1513 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H_{a,b}), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H_{a,b}), 4.71 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H_b), 4.53 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H_a), 4.35 (dt, *J* = 5.9, 4.9 Hz, 1H_b), 4.25 (ddd, *J* = 8.3, 4.0, 2.8 Hz, 1H_a), 3.85 (dd, *J* = 11.5, 2.8 Hz, 2H_a), 3.82 (s, 6H_{a,b}), 3.80–3.77 (m, 3H_b), 3.74 (dd, *J* = 11.5, 4.0 Hz, 1H_a), 1.95 (s, 3H_a), 1.87 (s, 3H_b) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 159.5, 129.5 (2C), 129.3, 113.9 (2C),

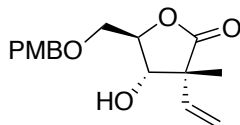
81.5, 74.3, 73.4, 66.1, 61.7, 55.3, 24.0 ppm (Carbon peaks were observed only for the major isomer); **HRMS** calcd for: C₁₄H₁₇BrNaO₅ [M+Na]⁺: 367.0152; found 367.0151 (-0.21 ppm).

(4*R*,5*R*)-3-Bromo-4-((dimethyl(vinyl)silyl)oxy)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (5.28)



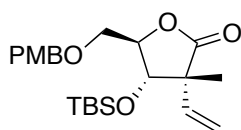
To a solution of **5.29** (2.60 g, 7.53 mmol) in DCM (75 mL, 0.1 M) at 0 °C was added pyridine (1.83 mL, 22.6 mmol) and chloro(dimethyl)vinylsilane (1.13 mL, 8.29 mmol). The reaction was stirred at room temperature for 16 hours, then concentrated *in vacuo*. Precipitate was removed by filtration over Celite[®] with Et₂O and crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 60:40) to give products **5.28ab** (2.63 g, 81% yield) as a colorless oil in a ~3:1 ratio. **R_f** = 0.5 (Hexanes/Et₂O, 50:50); **Formula**: C₁₈H₂₅BrO₅Si; **MW**: 429.38 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2947, 2866, 1793, 1513 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H_{a,b}), 6.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H_{a,b}), 6.17 – 6.05 (m, 4H_{a,b}), 5.85 (dd, *J* = 17.4, 6.6 Hz, 1H_a), 5.82 (dd, *J* = 18.9, 5.1 Hz, 1H_b), 4.73 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H_b), 4.54 (s, 2H_b), 4.51 (d, *J* = 1.5 Hz, 2H_a), 4.33 – 4.24 (m, 2H_{a,b}), 3.94 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H_a), 3.83 (s, 6H_{a,b}), 3.81 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H_a), 3.78 (dd, *J* = 11.2, 4.0 Hz, 1H_b), 3.68 (dd, *J* = 11.2, 4.9 Hz, 1H_b), 3.63 (dd, *J* = 11.8, 3.2 Hz, 1H_a), 1.87 (s, 3H_a), 1.82 (s, 3H_b), 0.28 (s, 3H_b), 0.27 (s, 6H_{a,b}), 0.26 (s, 3H_a) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 173.2, 172.1, 159.4, 136.2, 136.1, 134.8, 134.7, 129.52 (2C), 129.46, 113.9 (2C), 83.1, 81.3, 78.2, 74.1, 73.3, 73.2, 67.2, 65.2, 59.9, 56.8, 55.3, 24.5, 22.1, -1.4, -1.58, -1.62, -1.7 ppm (Some carbon peaks were not observed for the minor isomer); **HRMS** calcd for: C₁₈H₂₅BrNaO₅Si [M+Na]⁺: 451.0547; found 451.0545 (-0.51 ppm).

(+)-(3*R*,4*S*,5*R*)-4-Hydroxy-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyl-3-vinyldihydrofuran-2(3*H*)-one (5.27)



To a solution of **5.28** (1.15 g, 2.68 mmol) in toluene (27 mL, 0.1 M) at 0 °C with open atmosphere was added triethylborane (2.68 mL, 2.68 mmol) over 5 hours with air bubbling into the solution. The reaction was transferred into a plastic flask, then 3HF·NEt₃ (873 μL, 5.36 mmol) and THF (27 mL, 0.1 M) were added at 0 °C. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature and quenched slowly by cannulation into a saturated solution of NaHCO₃ at 0 °C. Aqueous phase was extracted with Et₂O (2x) and organic fractions were dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 40:60) to give product **5.27** (475 mg, 61% yield) as a colorless oil. **R_f** = 0.3 (Hexanes/Et₂O, 20:80); [α]_D²⁵ +57 (*c* 0.6, MeOH); **Formula:** C₁₆H₂₀O₅; **MW:** 292.33 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3435, 2935, 2866, 1771, 1513 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.27 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.93 (dd, *J* = 17.6, 10.7 Hz, 1H), 5.39 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 5.27 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 1.4 Hz, 2H), 4.21 (dt, *J* = 8.8, 4.4 Hz, 1H), 4.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.76 (dd, *J* = 4.5, 2.3 Hz, 2H), 1.41 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 176.2, 159.5, 132.9, 129.5 (2C), 129.4, 118.4, 113.9 (2C), 79.8, 77.1, 73.5, 68.2, 55.3, 51.1, 20.5 ppm; **HRMS** calcd for: C₁₆H₂₀NaO₅ [M+Na]⁺: 315.1203; found 315.1199 (-1.15 ppm).

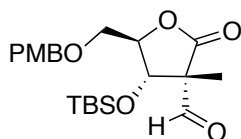
(+)-(3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyl-3-vinyldihydrofuran-2(3*H*)-one (5.26)



To a solution of **5.27** (1.71 g, 5.84 mmol) in DCM (60 mL, 0.1 M) at 0 °C was added 2,6-Lutidine (1.69 mL, 14.6 mmol) and TBSOTf (2.65 mL, 11.7 mmol) dropwise. The reaction was stirred at room temperature for 16 hours, then quenched by adding slowly a saturated solution of NaHCO₃ and concentrated *in vacuo*. The product was diluted with Et₂O, washed with brine and HCl 0.1 M, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 60:40) to give product **5.26** (1.87 g, 79% yield) as a yellow oil. **R_f** = 0.3 (Hexanes/Et₂O, 60:40); [α]_D²⁵ +56 (*c* 1.1, MeOH); **Formula:** C₂₂H₃₄O₅Si; **MW:** 406.59 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2958, 2931, 2855, 1787, 1513 cm⁻¹;

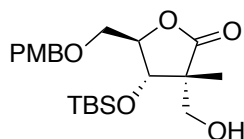
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.27 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.96 (dd, *J* = 17.6, 10.7 Hz, 1H), 5.28 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 5.22 (d, *J* = 17.7 Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.14 (ddd, *J* = 8.4, 3.8, 1.9 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.79 (dd, *J* = 11.6, 1.9 Hz, 1H), 3.59 (dd, *J* = 11.6, 3.8 Hz, 1H), 1.36 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.05 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 176.3, 159.3, 133.8, 129.6, 129.5 (2C), 116.9, 113.8 (2C), 81.1, 76.0, 73.2, 66.6, 55.3, 51.4, 25.6 (3C), 21.0, 17.9, -4.3, -4.8 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₂H₃₄NaO₅Si [M+Na]⁺: 429.2068; found 429.2071 (0.84 ppm).

(+)-(3*S*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyl-2-oxotetrahydrofuran-3-carbaldehyde (S.5)



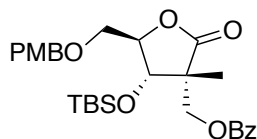
To a solution of **5.26** (1.78 g, 4.38 mmol) in DCM (88 mL, 0.05 M) was added a pinch of Sudan Red 7B and the reaction (solution was red/purple) was cooled to -78 °C. Ozone was bubbled into the solution for 30 minutes (solution turned orange), then Et₃N (1.22 mL, 8.76 mmol) was added, the mixture was warmed to room temperature, stirred for 30 minutes and concentrated *in vacuo*. The product was filtered over silica with Et₂O to give the desired aldehyde **S.5** (1.77 g, quantitative yield) as an orange oil that was used for next reaction without further purification. **R_f** = 0.55 (Hexanes/Et₂O, 20:80); [**α**]_D²⁵ +41 (*c* 1.2, MeOH); **Formula**: C₂₁H₃₂O₆Si; **MW**: 408.57 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2958, 2931, 2855, 1787, 1723, 1508 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.54 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.50 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.48 – 4.42 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.78 (dd, *J* = 11.5, 2.2 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 11.5, 2.8 Hz, 1H), 1.51 (s, 3H), 0.86 (s, 9H), 0.10 (s, 3H), 0.03 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 195.8, 172.7, 159.5, 129.6 (2C), 129.3, 113.9 (2C), 82.8, 77.6, 73.4, 66.3, 60.1, 55.3, 25.5 (3C), 17.8, 15.3, -4.6, -4.9 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₁H₃₂NaO₆Si [M+Na]⁺: 431.1860; found 431.1860 (-0.074 ppm).

(+)-(3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-3-(hydroxymethyl)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one (5.30)



To a solution of **S.5** (1.77 g, 4.33 mmol) in THF (44 mL, 0.1 M) at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ was added $\text{LiAlH}(\text{O}i\text{-Bu})_3$ (6.50 mL, 6.50 mmol) dropwise and the reaction was stirred for 2 hours at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sodium sulfate decahydrate (2.79 g, 8.66 mmol) was added and the mixture was warmed to room temperature, stirred for 45 minutes and concentrated *in vacuo*. The product was filtered over silica with Et_2O and the desired product **5.30** (1.25 g, 70% yield) was obtained as an orange oil that was used for next reaction without further purification. $R_f = 0.45$ (Hexanes/ Et_2O , 20:80); $[\alpha]_D^{25} +38$ (c 2.1, MeOH); **Formula:** $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{Si}$; **MW:** 410.58 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3494, 2929, 2857, 1773, 1513, 1249 cm^{-1} ; **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.55 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 4.38 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 4.35 – 4.30 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 3.79 – 3.71 (m, 2H), 3.61 (dd, $J = 11.3, 3.0$ Hz, 1H), 1.19 (s, 3H), 0.92 (s, 9H), 0.14 (s, 3H), 0.07 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **^{13}C NMR** (125 MHz, CDCl_3) δ 178.7, 159.4, 129.52 (2C), 129.47, 113.9 (2C), 83.7, 76.9, 73.3, 67.4, 66.4, 55.3, 49.8, 25.6 (3C), 18.8, 17.8, -4.5, -4.8 ppm; **HRMS** calcd for: $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{NaO}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 433.2017; found 433.2017 (0.14 ppm).

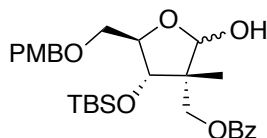
(+)-((3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyl-2-oxotetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (S.6)



To a solution of **5.30** (1.21 g, 2.95 mmol) in DCM (30 mL, 0.1 M) was added DMAP (36 mg, 0.295 mmol) and pyridine (1.19 mL, 14.7 mmol) at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. The mixture was cooled down to $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and benzoyl chloride (0.856 mL, 7.37 mmol) was added. The reaction was warmed to room temperature and stirred for 24 hours, then ethylenediamine (0.395 mL, 5.89 mmol) was added slowly at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and the resultant mixture was stirred for 45 minutes at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. After

concentrated *in vacuo*, the mixture was filtered over Celite[®] with Et₂O to remove the precipitate. The resultant oil was filtered over silica with Et₂O and the desired product **S.6** (1.59 g, quantitative yield) was obtained as a yellow oil that was used for next reaction without further purification. **R_f** = 0.5 (Hexanes/Et₂O, 30:70); [α]_D²⁵ +40 (c 1.2, MeOH); **Formula:** C₂₈H₃₈O₇Si; **MW:** 514.69 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2953, 2931, 2857, 1782, 1725, 1268 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.45 (appt, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.70 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.41 – 4.33 (m, 2H), 4.18 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.79 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 3.60 (dd, *J* = 11.7, 3.0 Hz, 1H), 1.35 (s, 3H), 0.84 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.02 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 177.0, 165.5, 159.4, 133.1, 129.7, 129.54 (3C), 129.50 (2C), 128.5 (2C), 113.9 (2C), 82.8, 74.8, 73.3, 66.9, 65.4, 55.3, 47.4, 25.6 (3C), 19.1, 17.8, -4.2, -4.9 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₈H₃₉O₇Si [M+H]⁺: 515.2460; found 515.2460 (0.0039 ppm).

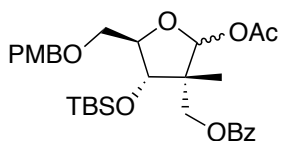
((3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-hydroxy-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (5.31**)**



To a solution of lactone **S.6** (1.59 g, 3.09 mmol) in THF (31 mL, 0.1 M) at 0 °C was added LiAlH(O*t*-Bu)₃ (6.18 mL, 6.18 mmol) dropwise and the reaction was stirred for 24 hours at room temperature. Sodium sulfate decahydrate (1.99 g, 6.18 mmol) was added and the mixture was stirred for 45 minutes, then concentrated *in vacuo*. The product was filtered over silica with Et₂O and the desired products **5.31ab** (1.26 g, 79% yield) were obtained in a ~3:1 ratio of anomers as a yellow oil that was used for next reaction without further purification. **R_f** = 0.45 (Hexanes/Et₂O, 30:70); **Formula:** C₂₈H₄₀O₇Si; **MW:** 516.71 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3435, 2952, 2925, 2855, 1717, 1513, 1272 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 4H_{a,b}), 7.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H_{a,b}), 7.46 (appq, *J* = 8.1 Hz, 4H_{a,b}), 7.29 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H_{a,b}), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H_{a,b}), 5.26 (s, 1H_a), 5.11 (s, 1H_b), 4.65 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H_a), 4.56 – 4.48 (m, 3H_{a,b}), 4.40 (d, *J* = 11.5 Hz, 2H_{a,b}), 4.35 (d, *J* = 11.5 Hz, 2H_{a,b}), 4.30 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H_a), 4.06 (dt, *J* = 6.3, 2.5 Hz, 2H_{a,b}), 3.99 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H_b), 3.83 (s, 6H_{a,b}), 3.65

(dd, $J = 10.3, 2.5$ Hz, 1H_a), 3.62 – 3.56 (m, 2H_b), 3.54 (dd, $J = 10.3, 2.6$ Hz, 1H_a), 1.23 (s, 3H_a), 1.16 (s, 3H_b), 0.89 (s, 18H_{a,b}), 0.09 (s, 3H_a), 0.06 (s, 3H_b), 0.05 (s, 3H_b), -0.04 (s, 3H_a) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.54, 166.48, 159.6, 159.3, 133.0, 132.9, 130.2, 129.7 (2C), 129.6 (3C), 129.5, 129.4 (3C), 129.1 (2C), 128.41 (2C), 128.38 (2C), 114.0 (2C), 113.8 (2C), 104.0, 101.5, 86.2, 83.7, 79.0, 77.4, 73.3, 73.0, 69.8, 68.6, 66.7, 65.3, 55.3 (2C_{a,b}), 50.9, 49.8, 25.7 (6C_{a,b}), 19.9, 17.9, 17.8, 16.3, -4.4, -4.57, -4.61, -5.1 ppm; HRMS calcd for: C₂₈H₄₀NaO₇Si [M+Na]⁺: 539.2436; found 539.2437 (0.22 ppm).

((3*R*,4*S*,5*R*)-2-Acetoxy-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (5.24)

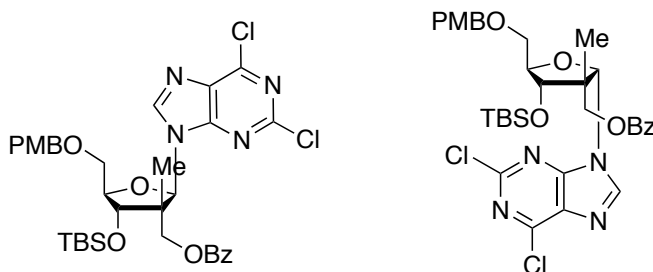


To a solution of **5.31** (97.8 mg, 0.189 mmol) in pyridine (2 mL, 0.1 M) at 0 °C was added acetic anhydride (71.6 μL, 0.757 mmol), then the reaction was warmed to room temperature, stirred for 24 hours and concentrated *in vacuo*. The product was diluted with EtOAc, washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 65:35) to give a yellow oil as a mixture of products **5.24ab** (76.7 mg, 73% yield) in a ~9:1 ratio of anomers. $R_f = 0.35$ (Hexanes/Et₂O, 60:40); **Formula:** C₃₀H₄₂O₈Si; **MW:** 558.74 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2952, 2931, 2850, 1744, 1723, 1513, 1272 cm⁻¹; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 2H_a), 8.04 – 7.97 (m, 2H_b), 7.58 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H_{a,b}), 7.46 (appt, $J = 7.8$ Hz, 4H_{a,b}), 7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H_{a,b}), 6.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H_{a,b}), 6.32 (s, 1H_a), 6.14 (s, 1H_b), 4.71 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H_b), 4.53 (s, 4H_{a,b}), 4.47 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H_a), 4.39 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H_a), 4.26 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H_a), 4.18 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H_b), 4.09 (ddd, $J = 7.6, 5.0, 2.9$ Hz, 2H_{a,b}), 3.98 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H_b), 3.83 (s, 6H_{a,b}), 3.67 (dd, $J = 10.9, 2.9$ Hz, 1H_a), 3.63 (dd, $J = 4.6, 1.4$ Hz, 1H_b), 3.60 (dd, $J = 11.5, 3.1$ Hz, 1H_b), 3.54 (dd, $J = 10.9, 5.0$ Hz, 1H_a), 2.04 (s, 3H_b), 1.99 (s, 3H_a), 1.25 (s, 3H_b), 1.20 (s, 3H_a), 0.90 (s, 9H_a), 0.84 (s, 9H_b), 0.13 (s, 3H_a), 0.05 (s, 3H_a), 0.02 (s, 3H_b), 0.01 (s, 3H_b) ppm; ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.1, 166.4, 159.2, 133.0, 129.6 (3C), 129.5, 129.2 (2C),

128.4 (2C), 113.7 (2C), 100.0, 84.0, 77.5, 72.8, 69.7, 66.0, 55.3, 49.5, 25.7 (3C), 21.2, 17.9, 16.1, -4.3, -4.6 ppm (Carbon peaks were identified only for the major anomer); **HRMS** calcd for: C₃₀H₄₂NaO₈Si [M+Na]⁺: 581.2541; found 581.2542 (0.082 ppm).

(–)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate
(5.23a, β-anomer)

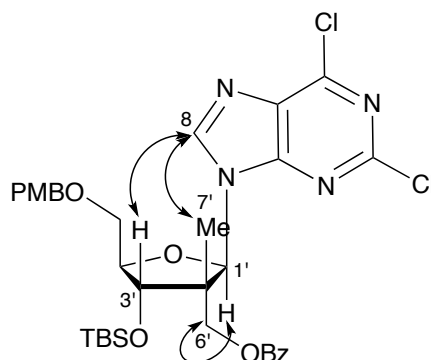
((2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate
(5.23b, α-anomer)



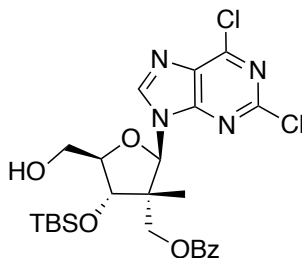
To a mixture of **5.24** (1.95 g, 3.50 mmol) and 2,6-dichloropurine (727 mg, 3.85 mmol) in dry acetonitrile (35 mL, 0.1 M) at –10 °C was added DBU (915 μL, 6.12 mmol). The mixture was stirred and then TMSOTf (1.27 mL, 6.99 mmol) was added dropwise over 2 minutes. After 4 hours at –10 °C, the reaction was warmed to room temperature, stirred for 2 hours and quenched by addition of a saturated solution of NaHCO₃ at 0 °C. The aqueous layer was extracted with DCM (3x) and the combined organic fractions were dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. ¹H NMR of the crude showed a ~18:1 ratio of β:α anomers. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 60:40) to provide the pure β-anomer **5.23a** (1.32 g, 55% yield) as a white foam. β-anomer was identified by nOe correlations which are detailed below (α-anomer was not characterized). **R_f** = 0.4 (Hexanes/Et₂O, 50:50); [**α**]_D²⁵ –14 (*c* 0.5, MeOH); **Formula**: C₃₃H₄₀Cl₂N₄O₆Si; **MW**: 687.69 g/mol; **IR** (neat) *v*_{max} 3113, 2958, 2925, 2855, 1723, 1589, 1556, 1358, 1250 cm^{–1}; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.09 (s, 1H), 8.27 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H), 7.63 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.55 (appt, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.95 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.63 (s, 1H), 4.65 – 4.59 (m, 2H), 4.59 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.49 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.16 (dt, *J* = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 3.94 (dd, *J* = 11.3, 2.0 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.69 (dd, *J* = 11.3,

2.0 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H), 0.86 (s, 3H), 0.09 (s, 3H), 0.05 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.6, 159.7, 152.9, 152.7, 151.7, 145.2, 133.3, 130.8, 130.0 (2C), 129.9 (2C), 129.6, 128.8, 128.7 (2C), 114.1 (2C), 88.2, 83.1, 74.6, 73.5, 66.6, 66.1, 55.3, 50.1, 25.7 (3C), 17.9, 17.3, -4.3, -4.7 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{NaO}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 709.1986; found 709.1980 (-0.96 ppm).

Interactions observed by nOe experiments for β -anomer **5.23a:**



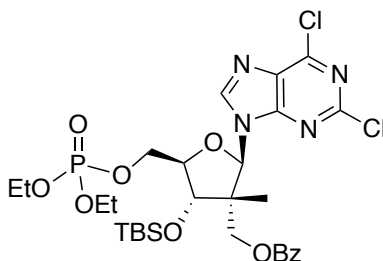
(–)-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (5.33**)**



To a solution of **5.23a** (493 mg, 717 μmol) in DCM (15 mL, 0.05 M) at room temperature with open atmosphere was added DDQ (488 mg, 2.15 mmol) and the mixture was stirred for 16 hours. Few drops of water were added and the reaction was stirred for another 7 hours. The mixture was slowly poured into a saturated solution of NaHCO_3 . The aqueous layer was extracted with DCM (3x) and the combined organic fractions were washed with brine, dried (MgSO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash

chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 40:60) to give the product **5.33** (367 mg, 90% yield) as a white solid. R_f = 0.2 (Hexanes/Et₂O, 50:50); $[\alpha]^{25}_D$ -12 (*c* 1.7, MeOH); **Formula:** C₂₅H₃₂Cl₂N₄O₅Si; **MW:** 567.54 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3317, 3102, 3065, 2925, 2855, 1723, 1594, 1551, 1363 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.27 (s, 1H), 8.25 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 2H), 7.64 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.55 (appt, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.62 (s, 1H), 4.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.52 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.31 (ddd, *J* = 12.2, 4.2, 2.0 Hz, 1H), 4.16 (dt, *J* = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 4.06 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 3.97 (ddd, *J* = 12.3, 3.9, 1.9 Hz, 1H), 0.96 (s, 9H), 0.92 (s, 3H), 0.22 (s, 3H), 0.17 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 153.1, 152.5, 151.6, 145.5, 133.4, 130.4, 129.8 (2C), 129.5, 128.7 (2C), 88.8, 84.2, 74.2, 66.4, 59.4, 50.2, 25.7 (3C), 17.9, 17.5, -4.2, -4.6 ppm; **HRMS** calcd for: C₂₅H₃₂Cl₂N₄NaO₅Si [M+Na]⁺: 589.1411; found 589.1398 (-2.32 ppm).

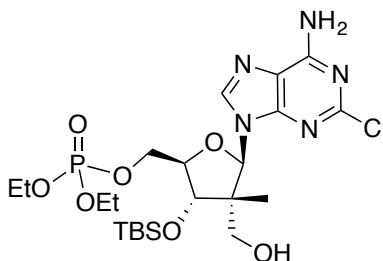
(+)-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-4-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(2,6-dichloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(((diethoxyphosphoryl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (5.22)



To a solution of **5.33** (349 mg, 615 μ mol) in THF (6.15 mL, 0.1 M) was added *t*-BuMgCl (1.35 mL, 1.08 mmol) dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. Diethylchlorophosphate (156 μ L, 1.08 mmol) was added slowly and the reaction was stirred for 4 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 50:50) to give the product **5.22** (389 mg, 90% yield) as a yellow oil. R_f = 0.35 (Hexanes/EtOAc, 40:60); $[\alpha]^{25}_D$ +10 (*c* 1.4, MeOH); **Formula:** C₂₉H₄₁Cl₂N₄O₈PSi; **MW:** 703.63 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2953, 2931, 2850, 1723, 1589, 1551, 1358, 1267 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 8.11 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.51 (appt, *J* = 7.8 Hz, 2H), 6.62 (s, 1H), 4.65 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.52 (ddd, *J* = 11.8, 4.7, 2.2 Hz, 1H), 4.49 – 4.43 (m, 2H), 4.32 (ddd, *J* = 11.8, 4.5, 2.8 Hz, 1H), 4.26 – 4.17 (m, 5H), 1.43 – 1.35 (m, 6H), 0.95 (s, 9H), 0.94 (s, 3H),

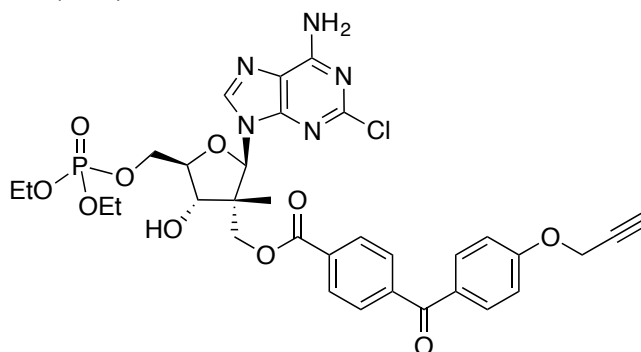
0.20 (s, 3H), 0.17 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.3, 153.1, 152.6, 151.9, 144.4, 133.4, 130.8, 129.6 (2C), 129.4, 128.7 (2C), 88.5, 82.5 (d, $J = 8.6$ Hz), 75.5, 66.3, 64.5 (d, $J = 4.8$ Hz), 64.4 (d, $J = 5.8$ Hz), 64.3 (d, $J = 5.7$ Hz), 49.8, 25.7 (3C), 17.9, 17.4, 16.3 (d, $J = 4.9$ Hz), 16.2 (d, $J = 5.1$ Hz), -4.3, -4.5 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{NaO}_8\text{PSi}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 725.1701; found 725.1688 (-1.73 ppm).

(+)-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl diethyl phosphate (5.21)



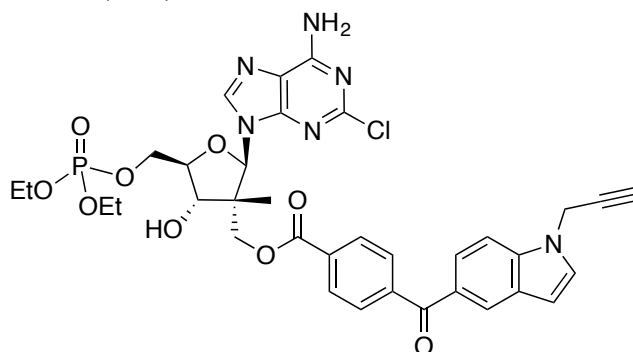
To a solution of **5.22** (596 mg, 847 μmol) in MeOH (21 mL, 0.04 M) in a high pressure flask at room temperature was bubbled $\text{NH}_3(\text{g})$ until saturation of the system, then the high pressure flask was closed and the solution was stirred at 80 $^\circ\text{C}$ for 24 hours. The mixture was diluted with MeOH (20 mL), cooled to room temperature and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH, 95:5) to give the product **5.21** (251 mg, 51% yield) as a white solid. $R_f = 0.15$ (DCM/MeOH, 95:5); $[\alpha]_D^{25} +2$ (c 1.1, MeOH); **Formula**: $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{ClN}_5\text{O}_7\text{PSi}$; **MW**: 580.09 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3296, 2952, 2928, 2855, 1613 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.11 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.77 (s, 2H), 4.44 (ddd, $J = 11.5, 5.7, 2.3$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.31 (dt, $J = 11.2, 5.1$ Hz, 1H), 4.24 – 4.12 (m, 5H), 3.94 (dd, $J = 11.8, 5.6$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 11.8, 7.6$ Hz, 1H), 2.67 (dd, $J = 7.5, 5.6$ Hz, 1H), 1.37 (tdd, $J = 7.1, 3.2, 1.0$ Hz, 6H), 0.96 (s, 9H), 0.76 (s, 3H), 0.20 (s, 3H), 0.17 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 156.9, 153.8, 149.9, 140.7, 118.1, 89.4, 82.6 (d, $J = 7.7$ Hz), 76.6, 66.9 (t, $J = 4.9$ Hz), 64.2 (q, $J = 5.2, 4.5$ Hz) (2C), 63.6, 50.5, 24.9 (3C), 17.5, 15.9, 15.0 (d, $J = 3.5$ Hz), 14.9 (d, $J = 3.8$ Hz), -5.2, -5.6 ppm; HRMS calcd for: $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{ClN}_5\text{O}_7\text{PSi}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 580.2118; found 580.2121 (0.54 ppm).

((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(((diethoxyphosphoryl)oxy)methyl)-4-hydroxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl 4-(4-(prop-2-yn-1-yloxy)benzoyl)benzoate (5.20)



To a solution of **5.21** (26.9 mg, 0.0464 mmol) in THF (1 mL) was added *t*-BuMgCl (64.9 μ L, 64.9 μ mol) dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. The photo-affinity probe **5.19** (22.7 mg, 60.3 μ mol) was added slowly and the reaction was stirred for 16 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. THF (464 μ L, 0.1 M) was then added to the crude mixture and the solution was cooled to 0 °C. TBAF (69.6 μ L, 69.6 μ mol) was slowly added, then the mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. The reaction was quenched with a saturated solution of NaHCO₃ and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3x). The combined organic fractions were dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 60:40) using *Biotage Isolera One* to give the final product **5.20** as a white solid (15.9 mg, 47% yield over 2 steps). **R_f** = 0.3 (DCM/MeOH, 90:10); **Formula:** C₃₃H₃₅ClN₅O₁₀P; **MW:** 728.09 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3285, 2979, 2904, 2571, 2345, 1719, 1605, 1454, 1266 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.31 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.85 (t, *J* = 8.9 Hz, 4H), 7.16 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.52 (s, 1H), 4.91 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 4.71 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.50 – 4.48 (m, 2H), 4.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.30 (dd, *J* = 8.0, 3.9 Hz, 1H), 4.23 – 4.13 (m, 4H), 3.05 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H), 1.38 – 1.31 (m, 6H), 0.97 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **HRMS** calcd for: C₃₃H₃₆ClN₅O₁₀P [M+H]⁺: 728.1883; found 728.1882 (-0.072 ppm).

(–)-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(6-Amino-2-chloro-9*H*-purin-9-yl)-5-(((diethoxyphosphoryl)oxy)methyl)-4-hydroxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl 4-(1-(prop-2-yn-1-yl)-1*H*-indole-5-carbonyl)benzoate (5.34**)**



To a solution of **5.21** (41.0 mg, 70.7 μmol) in THF (1 mL) was added *t*-BuMgCl (98.9 μL , 98.9 μmol) dropwise at room temperature and the mixture was stirred for 45 minutes. The photo-affinity probe **5.13** (31.1 mg, 77.7 μmol) was added slowly and the reaction was stirred for 16 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH and concentrated *in vacuo*. THF (707 μL , 0.1 M) was then added to the crude mixture and the solution was cooled to 0 °C. TBAF (106 μL , 106 μmol) was slowly added, then the mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. The reaction was quenched with a saturated solution of NaHCO₃ and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3x). The combined organic fractions were dried (MgSO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Crude product was purified by reverse phase (C18) flash chromatography (H₂O/MeCN, 60:40) using *Biotage Isolera One* to give the final product **5.34** as a white solid (20 mg, 38% yield over 2 steps). R_f = 0.3 (DCM/MeOH, 90:10); $[\alpha]_D^{25}$ –27 (*c* 0.4, MeOH); **Formula**: C₃₅H₃₆ClN₆O₉P; **MW**: 751.13 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3269, 2968, 2909, 2362, 2329, 1722, 1612, 1316, 1259 cm^{–1}; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.31 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 8.09 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.78 (dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 8.7, 0.9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.66 (dd, *J* = 3.3, 0.8 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.09 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 4.69 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.52 – 4.47 (m, 2H), 4.42 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.31 (dd, *J* = 8.0, 3.9 Hz, 1H), 4.22 – 4.13 (m, 4H), 2.90 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.34 (tdd, *J* = 7.0, 5.2, 1.0 Hz, 6H), 0.96 (s, 3H) ppm (Labile protons were not observed due to exchange with deuterated solvent); **¹³C NMR** (125 MHz, CD₃OD) δ 196.9, 165.7, 156.7, 154.1, 150.2, 142.9, 139.6, 138.6, 132.2, 129.5, 129.4 (2C), 129.2 (2C), 128.5, 128.3, 125.2, 123.3, 117.6, 109.5, 103.3, 88.6, 82.1

(d, $J = 8.0$ Hz), 77.4, 74.9, 73.6, 66.8, 66.3 (d, $J = 4.1$ Hz), 64.4 (d, $J = 2.9$ Hz), 64.3 (d, $J = 2.7$ Hz), 49.1, 35.2, 16.1, 15.1 (d, $J = 2.9$ Hz), 15.0 (d, $J = 3.0$ Hz) ppm; **HRMS** calcd for: $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{ClN}_6\text{O}_9\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 751.2043; found 751.2043 (0.078 ppm).